Carla Cristina Bauermann Brasil
(Organizadora)

Alimentos: toxicologia e microbiologia & química e bioquímica

Atena Editora
Ano 2022

Carla Cristina Bauermann Brasil
(Organizadora)

Alimentos: toxicologia e microbiologia & química e bioquímica

Atena Editora
Ano 2022

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Camila Alves de Cremo
Daphynny Pamplona
Gabriel Motomu Teshima
Luiza Alves Batista
Natália Sandrini de Azevedo
Imagens da capa
iStock
Edição de arte
Luiza Alves Batista

2022 *by* Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do texto © 2022 Os autores
Copyright da edição © 2022 Atena Editora
Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.
Open access publication by Atena Editora

Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial
Ciências Agrárias e Multidisciplinar
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Atena Editora
Ano 2022

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Atena Editora
Ano 2022

Diagramação: Gabriel Motomu Teshima
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Carla Cristina Bauermann Brasil

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A411 Alimentos: toxicologia e microbiologia & química e bioquímica / Organizadora Carla Cristina Bauermann Brasil. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-837-0
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.370221701

1. Alimentos. I. Brasil, Carla Cristina Bauermann (Organizadora). II. Título.

CDD 641.3

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Atena Editora
Ano 2022

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

A obra ‘’Alimentos: Toxicologia e microbiologia & Química e bioquímica’’ publicada no formato *e-book* explana o olhar multidisciplinar da área de alimentos. O principal objetivo desse e-book foi apresentar de forma categorizada os estudos, relatos de caso e revisões desenvolvidas em diversas instituições de ensino e pesquisa do país, os quais transitam nos diversos caminhos da ciência e tecnologia de alimentos. Em todos esses trabalhos a linha condutora foi o aspecto relacionado a caracterização de alimentos; analise e parâmetros físico-químicos e microbiológicos de alimentos; desenvolvimento de novos produtos alimentícios, legislação dos alimentos e áreas correlatas.

Temas diversos e interessantes são, deste modo, discutidos nestes 19 capítulos com a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos, mestres e todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área da ciência e tecnologia de alimentos e seus aspectos. Portanto, possuir um material científico que demonstre com dados substanciais de regiões específicas do país é muito relevante, assim como abordar temas atuais e de interesse direto da sociedade. Deste modo a obra ‘’Alimentos: Toxicologia e microbiologia & Química e bioquímica’’ se constitui em uma interessante ferramenta para que o leitor, tenha acesso a um panorama do que tem sido construído na área em nosso país.

Uma ótima leitura a todos(as)!

Carla Cristina Bauermann Brasil

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 ..... **1**

ASPECTOS DA FERMENTAÇÃO MALOLÁTICA NO PROCESSO DE VINIFICAÇÃO DE VINHOS ARGENTINOS E BRASILEIROS

Maria Mariana Oliveira Souza
Thamyres Fernanda Moura Pedrosa Souza

https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217011

CAPÍTULO 2 ..... **11**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MALTE FERMENTADO COM *AGARICUS BRASILIENSIS*

Mariane Daniella da Silva
Herta Stutz
Fernanda Maria Pagane Guereschi Ernandes
Crispin Humberto Garcia-Cruz

https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217012

CAPÍTULO 3 ..... **18**

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DE *Lactobacillus plantarum* APÓS INCORPORAÇÃO EM CHOCOLATES ARTESANAIS COM ALTO TEOR DE CACAU

Kassiany Pedroso Dalmora
Thabata Maria Alvarez

https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217013

CAPÍTULO 4 ..... **29**

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA: USO DO MESOCARPO DE BABAÇU NAS ÁREAS DE ALIMENTOS, FÁRMACOS E COSMÉTICOS

Itaceni de Araújo Sousa
Tonicley Alexandre da Silva

https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217014

CAPÍTULO 5 ..... **39**

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FARINHA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA EM MACEIÓ – AL

Genildo Cavalcante Ferreira Júnior
Heitor Barbosa Gomes de Messias
Eduarda Mendes de Almeida
Lucas Pedrosa Souto Maior
Eliane Costa Souza
Thiago José Matos Rocha
Jammily de Oliveira Vieira Moreira

https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217015

CAPÍTULO 6 ..... **47**

DIFERENTES POTENCIALIDADES E USOS DO ÓLEO DE MACAÚBA : UMA BREVE

REVISÃO
Thaynara Cavalcanti Lima
Cristhiane Maria Bazílio de Omena Messias
Marianne Louise Marinho Mendes
https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217016

CAPÍTULO 7 53

ANÁLISE NUTRICIONAL, QUÍMICA E ANATÔMICA DE MARUPAZINHO (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb – IRIDACEAE) DE BELÉM DO PARÁ, BRASIL
Ana Paula Ribeiro de Carvalho Ferreira
Mariana Aparecida de Almeida Souza
João Paulo Guedes Novais
Dayane Praxedes da Silva
Mirian Ribeiro Leite Moura
Ana Cláudia de Macêdo Vieira
https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217017

CAPÍTULO 8 73

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DOCE DE CUMBARU (*Dipteryx alata Vog.*) ACRESCIDO DE FARINHA DE BAGAÇO DE MALTE
Drielle Suely de Souza Oliveira
Márcia Helena Scabora
Daiane Alves Cardoso
Dayane Sandri Stellato
https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217018

CAPÍTULO 9 87

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf) POR HIDRODESTILAÇÃO
Marilia Assunta Sfredo
Carina Tasso
Daniele Bergmeier
Cristiane Reinaldo Lisboa
José Roberto Delalibera Finzer
https://doi.org/10.22533/at.ed.3702217019

CAPÍTULO 10 102

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE SALSICHA RESFRIADA TIPO HOT DOG COMERCIALIZADA EM UBERABA, MINAS GERAIS
Priscila Renata da Costa
Claudia Maria Tomás Melo
https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170110

CAPÍTULO 11 108

RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES EM FRANGOS DE CORTE - HÍBRIDOS COMERCIAIS (*Gallus gallus domesticus*)
Carlos Eduardo da Silva Soares

Fabiano Dahlke
Lucélia Haupti
Priscila de Oliveira Moraes
Priscila Arrigucci Bernardes
André Luís Ferreira Lima - Bernardes
Diego Peres Neto
Juliano de Dea Lindner

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170111

CAPÍTULO 12.....123

ÓLEOS VEGETAIS EM PRODUTOS CÁRNEOS: PERSPECTIVAS FUTURAS PARA SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA ANIMAL

Juliana de Andrade Mesquita
Erika Cristina Rodrigues
Katiuchia Pereira Takeuchi
Edgar Nascimento
Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170112

CAPÍTULO 13.....146

EVALUATION OF TWO TOXIN BINDERS EFFECTIVNESS IN REDUCING ZEARALENONE TOXIC EFFECTS ON GILTS

José Antonio Fierro
Juan Carlos Medina
Luis Miguel Dong
Elizabeth Rodríguez

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170113

CAPÍTULO 14.....152

LIPASE B FROM *Candida antarctica*: ACTIVITY AND STABILITY studies in DIFFERENT PH AND TEMPERATURES

Mirian Cristina Feiten

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170114

CAPÍTULO 15.....163

MICROSCOPIA DE ALIMENTOS: DIFICULDADES E LEGISLAÇÃO VIGENTE NA IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS

Gustavo Paim de Carvalho
André Luis de Alcantara Guimarães

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170115

CAPÍTULO 16.....173

IDENTIFICAÇÃO MICROSCÓPICA DE ADULTERANTES E MATÉRIAS ESTRANHAS NA COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS E OS IMPACTOS NA SAÚDE PÚBLICA

Ludilaine Fiuza Barreto de Oliveira
André Luis de Alcantara Guimarães

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170116

CAPÍTULO 17 ..... **185**

ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DO ÓLEO E DA NANOEMULSÃO DE *MAURITIA FLEXUOSA* NA INTERAÇÃO ENTRE FAGÓCITOS E *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

Marianny Carolina Custódio da Silva Brito
Núbia Andrade Silva
Victor Pena Ribeiro
Adenilda Cristina Honório-França
Eduardo Luzia França
Kellen Menezes de Oliveira
Silvana de Oliveira Castro
Juliana Francyelle Martins de Camargo
Guilherme Alves Sena
Valmir André Peccini
Mateus Abreu Milani
Ana Beatriz dos Santos Matsubara
Matheus Leal Lira Alves
Lucélia Campelo de Albuquerque Moraes

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170117

CAPÍTULO 18 ..... **204**

DETERMINAÇÃO DE HERBICIDAS EM ÁGUA DE ABASTECIMENTO DE ESCOLAS DA REGIÃO RURAL DO MUNICÍPIO DE SANTA MARIA/RS

Rosselei Caiel da Silva
Jonatan Vinicius Dias
Jefferson Soares de Jesus
Ionara Regina Pizzutti
Rochele Cassanta Rossi

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170118

CAPÍTULO 19 ..... **215**

SUCO DE LIMÃO: PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E PROCESSAMENTO

Lucia Maria Jaeger de Carvalho
Antonio Gomes Soares
Marcos José de Oliveira Fonseca
José Luiz Viana de Carvalho

https://doi.org/10.22533/at.ed.37022170119

SOBRE A ORGANIZADORA **246**

ÍNDICE REMISSIVO **247**

CAPÍTULO 1

ASPECTOS DA FERMENTAÇÃO MALOLÁTICA NO PROCESSO DE VINIFICAÇÃO DE VINHOS ARGENTINOS E BRASILEIROS

Data de aceite: 01/11/2021

Maria Mariana Oliveira Souza
Centro Universitário Vale do Ipojuca - Unifavip
Caruaru – Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/6131187816782779

Thamyres Fernanda Moura Pedrosa Souza
Centro Universitário Vale do Ipojuca - Unifavip
Caruaru – Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/2960145140148773

RESUMO: O mercado mundial de vinhos vem crescendo, abrindo espaço para países do "novo mundo" terem destaque e competência de "disputar em igualdade com o "velho mundo". A Argentina e o Brasil são países em expansão no mercado, com terroir perfeito pra diversas castas de *Vitis viníferas* e competência para a produção de vinhos finos como vem mostrando há anos. A pesquisar e utilização de técnicas para aperfeiçoamento de todo o processo de vinificação é de extrema necessidade para o resultado ser visto em cada garrafa. A utilização de técnicas como fermentação malolática para atribuição de mais características organolépticas e intensidade aos vinhos finos e espumantes, é uma ótima alternativa para as vinícolas por se tratar de um técnico de pouco complexa e de baixo custo. Fica a evolução da enologia trabalhar as características adquiridas em todo do processo necessária para cada casta de diminuir a acidez dos vinhos, dar corpo e estrutura, intensificar a cor, novo aromas e sabores as bebidas.

PALAVRAS-CHAVE: bactérias do ácido láctico, fermentação malolática, cor do vinho, taninos, enologia.

ASPECTS OF MALOLACTIC FERMENTATION IN THE WINEMAKING PROCESS OF ARGENTINE AND BRAZILIAN WINES

ABSTRACT: The world wine market has been growing, making room for countries in the "new world" to have prominence and competence to "dispute on an equal footing with the "old world". Argentina and Brazil are expanding countries in the market, with perfect terroir for several Vitis vinifera varieties and competence in the production of fine wines, as it has been showing for years. Researching and using techniques to improve the entire winemaking process is extremely necessary for the result to be seen in each bottle. The use of techniques such as malolactic fermentation to give more organoleptic characteristics and intensity to fine and sparkling wines, is a great alternative for wineries because it is a low-cost and little complex technician. The evolution of oenology is left to work on the characteristics acquired throughout the process necessary for each variety to reduce the acidity of the wines, give body and structure, intensify the color, new aromas and flavors in the drinks.

KEYWORDS: lactic acid bacteria, malolactic fermentation, wine colour, tannins, enology.

1 I INTRODUÇÃO

O vinho é uma bebida resultante da fermentação alcoólica completa ou parcial do

mosto da uva fresca, obrigatoriamente. Os vinhos são divididos em relação à sua classe como: De mesa, Leve, Fino ou V.Q.S. (Vinho de Qualidade Superior), Espumante, Frisante, Gaseificado, Licoroso e Composto (MERCOSUL, 1996).

Por sua vez os vinhos finos são feitos exclusivamente de uvas de variedades *Vitis vinífera*, diferentemente dos vinhos de mesa, com seu teor alcoólico de 8.6% a 14%, e são classificados por seu açúcar sendo seco, Demi Sec ou Meio Seco e Suave ou Doce e chamados com relação à sua cor podendo ser tinto, Rosé e Branco (MERCOSUL, 1996).

Todo processo de vinificação tratasse de inúmeras transformações bioquímicas, fundamentais entre microrganismos de suas duas etapas principais, a fermentação alcoólica feitas por leveduras indígenas e adicionadas com os açúcares e a fermentação malolática (FML) realizadas por bactérias do ácido lático (PEIXOTO, 2012).

A descarboxilação do ácido L-málico para o ácido L-láctico mais macio, realizada pelas bactérias do ácido láctico (BAL) é almejada por muitos dos vinhos à base tintos e brancos e espumantes, esta fermentação resulta no enriquecimento aromática do vinho pela produção de compostos da metabolização do ácido cítrico e melhora estabilidade microbiológica devido ao consumo das fontes de carbono e energia restantes. A fermentação malolática provou ser um processo mais complexo devido à variabilidade de BAL que melhor atuam em cada *Vitis vinífera* (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Contudo as fermentações produzem aromas agradáveis e aumentam a complexidade organolética, não diferente das leveduras da fermentação alcoólica as bactérias também levam à formação de aromas particulares em cada tipo de vinho. O aroma “amanteigado” adquirido ao vinho é atribuído ao diacetilo, assim como o sabor de caramelo e amanteigado, é um importante composto produzido pela BAL, associados à fermentação malolática assim como outro aromas como frutado, floral, nozes, baunilha, fumo, amargo mel, fermento, tostado, terra, entre outros formados por aminoácidos quão a cisteína (PEIXOTO, 2012).

Bactérias do ácido lático como *O. oeni* está diretamente ligada ao metabolismo do citrato que leva à produção de ácido acético e acetoína, resultado da degradação do ácido cítrico, presentem de grande quantidade no mosto e no vinho, como também atua como precursor convertendo compostos como vanilina presentes nos barris de carvalho onde os vinhos passam no processo de envelhecimento. A fermentação pode produzir aumento de ésteres etílicos e polissacarídeos em a sensação de copo ao vinho assim como compostos derivados de madeira (PEIXOTO, 2012).

Sobretudo Parte essencial do vinho são seus atributos organoléticos, mesmo em pequenas quantidades acetonas e compostos fenólicos, taninos e antocianinas, exerce papel importante na cor e adstringência. Taninos por sua vez causando uma sensação de secagem no paladar, adstringência, interagindo com as papilas salivares, complexos macromoleculares insolúveis relacionados à composição fenólica de cada tipo uva, quem passam períodos exposto em barril envelhecendo, para o amaciamento destes (ALEIXANDRE-TUDO; DU TOIT, 2020).

No entanto a diminuição fenólica do teor de antocianina no envelhecimento em barril advinda da degradação oxidativa e química, promove a formação de estrutura pigmentada proporciona a intensidade da cor (ALEIXANDRE-TUDO; DU TOIT, 2020).

As bactérias do ácido lático (BAL) comportasse de diferentes maneiras dependendo da química de cada vinho, cepas de O. oeni e Lb. Plantarum quando submetidos a casta de Pinot noir e Merlot, alterações significativas na intensidade da cor do vinho e do pH é observado quando há fermentação e mesmo quando não é bem-sucedido (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Já a acidez do vinho resulta da concentração dos ácidos orgânicos e cátions, principalmente do potássio do mosto, está é uma característica importante sensorial e necessária para estabilidade físico-química e biológica do vinho. O processo de vinificação também contribui para mudanças na acidez com dissolução dos minerais da película e polpa da uva na maceração; a síntese de ácidos orgânicos por meio da fermentação alcoólica; a degradação do ácido málico em ácido lático na fermentação malolática (RIZZON; MIELE, 2002).

2 I METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma pesquisa bibliográfica do tipo revisão de literatura integrativa, e tem como tema: Aspectos da fermentação malolática no processo de vinificação de vinhos argentinos e brasileiros. O estudo foi constituído pela literatura relacionada ao tema apresentado de uma maneira integrativa. A pesquisa foi respaldada em bases de dados como: ScienceDirect, Google Acadêmico; EBSCO e SCIELO; além de sites oficiais como de regulamento vitivinícola do MERCOSUL. Os dados foram coletados a partir de artigos, periódicos, livros, textos, documentos, tabelas, gráficos, e de materiais disponíveis na internet em sites oficiais.

Foram utilizados 16na pesquisa que como critérios de inclusão: artigos, livros, em idioma português, inglês e espanhol que contenha as seguintes palavras-chave: fermentação malolática, vinho, taninos e enologia, publicados nos últimos 20 anos. E como critério de exclusão, serão enquadrados, artigos que não estejam relacionados ao tema, que apresentaram fuga da temática central, e que não foram relevantes para o estudo em questão e em idioma diferente do critério de inclusão ou que estão fora do período do estudo.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Bactérias do ácido lático

A *Oenococcus oeni* é a principal e primeira espécie de BAL a ser reconhecida como responsável pela FML de vinhos, por ser a mais bem adaptada às condições da bebida, a

incumbida da FML em muitos países e vinícolas. Assim como *Lactobacillus plantarum* está começando a ser utilizada como uma cultura inicial, por ser capaz de realizar FML, bem como *O. oeni* (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Essas espécies BAL por serem mais adaptáveis superam as duras condições ambientais do vinho e, portanto, representa a maioria das culturas iniciais comerciais de FML. Graças ao aquecimento global, a colheita de uvas de maior maturação levando ao maior pH dos mostos, necessitando de uma maior adaptabilidade destas bactérias (IGLESIAS, 2020).

Parâmetros devem ser levados em consideração pois influenciam a taxa de crescimento das BAL, no vinho: pH, temperatura, conteúdo em etanol e concentração de SO2. E nenhum portanto deve ser considerado isoladamente. Por sua vez a influência do pH na FML, é um dos fatores de total importância (PEIXOTO, 2012).

Além da sua influência no crescimento celular, o pH afetará a atividade malolática das bactérias, a duração da fermentação e dos substratos metabolizados. Deferente de um alto número de bactérias, as BAL conseguem desenvolver-se no pH por volta dos 3.5, e mais facilmente acima disso, mas o pH 3.0 torna-se mais difícil sua atividade e crescimento (PEIXOTO, 2012).

A temperatura é outro fator que deve ser monitorado uma vez que interfere diretamente na velocidade de fermentação. A temperatura ideal de desenvolvimento situa-se entre 20º e os 37ºC, no entanto, as BAL são capazes de crescer nas margens de entre 15º e os 45ºC (PEIXOTO, 2012).

As BAL são segmentadas de acordo com seu metabolismo de açúcares e produtos finais. Tais como as hexoses, a glucose, são fermentadas pelas bactérias do grupo homofermentativo resultando no produto mais de 85% de ácido lático, já o grupo heterofermentativo (via 6P-gluconato/fosfocetolase) que para cada mole de açúcar fermentada, produze ácido lático, além do CO2, etanol e ácido acético (PEIXOTO, 2012).

O pH habitual dos vinhos corresponde ao potencial da atividade malolática das células, pois a enzima tem uma atividade máxima, dentro das células, a um pH próximo até de 3.2, apesar do seu pH melhor situar nos 5.8 . O. oeni está predominantemente em vinhos de pH baixo 3.5. As interações das BAL com outros microrganismos presentes no vinho afetam a sua sobrevivência, concentrações elevadas de azoto, a produção de SO2 por algumas estirpes de Saccharomyces, podem contribuir afetando a fermentação malolática, com a inibição O. oeni (PEIXOTO, 2012).

Entretanto, as leveduras da fermentação alcoólica acabam estimular a fermentação malolática pois sua autólise resulta na libertação de vitaminas e aminoácidos que as BAL podem utilizar para o seu crescimento (PEIXOTO, 2012). A sequência do genoma das cepas nativas nos proporcionará informações necessárias sobre as capacidades metabólicas para realizar com êxito o processo de FML e sua capacidade de adaptação ao ambiente do vinho. Assim como nos últimos anos, as cepas de BAL também foram submetidas a

análise genômica para avaliar melhor suas funções fisiológicas e capacidade de adaptação ambiental. A FML exigem o controle, a melhoria e a inovação do processo, pois com o conhecimento detalhado das possíveis respostas da bactéria durante a fermentação e as condições de processamento poderemos ver bons resultados (IGLESIAS, 2020).

3.2 Acidez

A acidez por sua vez é uma das características gustativa mais essencial dos vinhos e interfere sua estabilidade e coloração. Graças à insolubilização do ácido tartárico a acidez é titulável, e assim o pH pode ser modificado com o teor de potássio da uva durante o processo de vinificação, pois o ácido está sob forma de sais (RIZZON; MIELE, 2002).

O pH do vinho estar sujeito a concentração de cátions, especialmente do potássio e a concentração dos ácidos orgânicos. Os elementos relacionados à acidez do vinho têm participação fundamental nas características sensoriais, na biológica do vinho e na estabilidade físico-química. Estão diretamente relacionada à composição do mosto especialmente à sua acidez, à influência do ácido tartárico em relação ao málico e à concentração de potássio. Contudo a atividade fermentativa de determinadas leveduras da fermentação alcoólica tem aptidão para produção de ácidos orgânicos que são fontes que contribuem para aumentar a acidez titulável do vinho no processo de vinificação (RIZZON; MIELE, 2002).

A dissolução dos minerais e os ácidos orgânicos são o provável fator para o aumento da acidez na vinificação estes liberados da película para o mosto por andamento da maceração, na síntese da fermentação alcoólica; a degradação do ácido málico na FML e a precipitação do ácido tartárico na forma de tartarato neutro de cálcio e bitartarato de potássio (RIZZON; MIELE, 2002).

Em parâmetros de comparação relatou-se diferentes pH e cor em relação a realização da FML em distintas castas de uvas e diferentes cepas de BAL, no vinho da uva Pinot noir inoculado ou não inoculado (sem FML), com cepas de *O. oeni* (ATCC 27310 (OeATCC 27310) e UNQOe19 (KY561603, CP027431)) e as duas *Lb. plantarum* cepas (ATCC 14917 (LpATCC 14917) e UNQLp11 (CP031140)) diferentes parâmetros que foram pontuados. Relatou-se que o pH foi maior apenas nas amostras de vinho em que a fermentação FML foi bem-sucedida, contudo, amostras inoculadas com cepas de *O. oeni* a intensidade da cor foi significativamente aumentada no vinho inoculado com a cepa UNQOe19 em comparação com todas as outras condições. A redução dos taninos foi significativamente maior no vinho inoculado com LpATCC 14917, calculados como a razão das absorbâncias obtidas em 420 e 520 nm (A420 / 520),. Além disso a cor, os valores de vermelhidão foi expressivamente menores do que na condição de controle em que a FML não foi bem-sucedido nos vinhos inoculados com cepas de *Lactobacillus* . Já nas amostras em que a FML foi bem-sucedida as inoculadas com *Oenococcus* em comparação com todas as outras condições descobrimos que as diferenças colorimétricas entre as amostras

inoculadas e a condição de controle (sem FML), os resultados mostram uma diminuição no croma e um aumento no matiz nas amostras em que a FML foi bem-sucedido (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Porem no vinho da uva Merlot, diferentes parâmetros que foram medidos com a inoculado ou não inoculado (sem FML) das mesmas BAL, nesta casta de uva, apenas por *Lb. plantarum* cepa UNQLp11 foi capaz de realizar completar o FML, assim houve a maior transformação do pH, havendo diferença expressiva na amostras inoculadas por outras cepas (UNQOe19 e LpATCC 14917) que a FML foi mal realizado (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

3.3 Compostos aromáticos

Durante a vinificação, ocorre uma série de transformações bioquímicas, sendo fundamental a interação de diferentes microrganismos, sobretudo em duas etapas fundamentais. A etapa principal é a fermentação alcoólica, realizada pelas leveduras, enquanto as bactérias do ácido lático (BAL) são responsáveis pela fermentação malolática (PEIXOTO, 2012).

A formação de aromas e sabores está dependente das vias metabólicas dos diferentes organismos, sendo benéfica, em muitas situações, para a qualidade do produto final. Contudo, a proliferação descontrolada de leveduras e bactérias durante a vinificação pode levar à presença de alguns compostos indesejáveis, com impacto sensorial a partir de certas concentrações. No caso da fermentação malolática, principalmente quando esta ocorre a um pH superior a 3.5, alguns cheiros negativos são descritos como, por exemplo, “urina de rato” e “odor animal”, devido à produção de acetamida e compostos fenólicos (PEIXOTO, 2012).

A identificação de compostos de enxofre produzidos durante a fermentação malolática e a caraterização das vias metabólicas é muito importante uma vez que permite um maior entendimento sobre os compostos produzidos, possibilitando um maior controlo durante a vinificação e a produção de vinhos mais aprazíveis (PEIXOTO, 2012).

Distintas interações e fatores contribuem para a formação de compostos cruciais para a qualidade final dos vinhos. As fermentações tanto alcoólica como malolática produzem aromas agradáveis e acrescentam a complexidade organolética. as bactérias assim como as leveduras e estirpes diferentes resulta em formação de aromas distintos, em diferentes tipos de vinho. Há vários aromas associados à fermentação malolática como o amanteigado principalmente, mas também frutado, verde, baunilha, fumo, amargo mel, fermento, tostado, terra, floral, nozes, suado, picante e outros (PEIXOTO, 2012).

Um dos compostos mais relevante sintetizado pelas BAL é o diacetilo, que traz o aroma “amanteigado”. *O. oeni* produz o de ácido acético e acetoína por meio do metabolismo do citrato, o diacetilo é um metabolito secundário resultante da degradação do ácido cítrico, no mosto e no vinho é um dos componentes presentes em maior quantidade.

Uma concentração de diacetilo deve ser entre 1 a 4 mg L -1 é considerada benéfica, dando um sabor caramelo ou amanteigada, mudando de acordo com cada tipo de vinho, mas acima de 5 mg L-1 é considerada desagradável para o bebida(PEIXOTO, 2012).

Com o aroma e sabor de amanteigado e do frutado aumentado, resulta com que tenha uma redução do carácter verde/vegetativo ao vinho. A fermentação é capaz produzir também compostos capazes de dar a sensação de corpo, que se confere à produção de polissacarídeos e a contribuição do aroma frutado deve-se à formação de éstere. (PEIXOTO, 2012).

Diferentes estirpes podem influenciar, também, os compostos resultantes do ciclo do ácido cítrico. Pesquisas evidenciam que O. oeni foi capaz de sintetizar a vanilina e aumentar a concentração deste composto já presentes nos barris de carvalho principalmente o americano, indicando que há um desbravador na madeira que pode ser convertido pelas BAL. A cor e corpo dos vinhos tintos podem ser transformados devido a mudanças dos compostos fenólicos, fenóis que precipitam ou sofrem mudanças a nível estrutural. Assim ocasionada pela fermentação malolática pode reduzir adstringência por reação de taninos e antocianinas livres das antocianinas. (PEIXOTO, 2012).

3.4 Cor do vinho

A FML prova ser um processo de muita complexidade e variabilidade do metabolismo das BAL que modifica os características organolépticos, afeta o perfil aromatico e os parâmetros de cor. Temos que considerar a adstringência e o amargor, que são atributos do vinho estão relacionados à composição fenólica da uva assim como a cor que é conferida por moléculas chamadas antocianinas, adstringência e amargor estão associados aos compostos polifenólicos conhecidos como taninos e, mais especificamente, taninos condensados ou proantocianidinas. Os conhecimentos sobre o FML quanto afetam a composição fenólica e a cor do vinho ainda não são muitas. A variedade de uva, viticultura, *terroir* e etapas da vinificação como fermentação alcoólica e cepa de levedura, bem como diferentes espécies e cepas BAL são fatores para mudança nos parâmetros de cor (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Parte essencial para os atributos organoléticos dos vinhos tintos são compostos fenólicos, no qual desempenham papeis de propriedades na qualidade das mais importantes do vinho durante a vinificação. Entre os compostos fenólicos, que desempenhem papéis importantes nas propriedades organolépticas do vinho acredita-se ser dois grupos, antocianinas e taninos (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020). Há mudanças expressivas já normalmente na cor pode observada durante o processo de envelhecimento dos vinhos em barris ou em garrafas (ALEIXANDRE-TUDO; DU TOIT, 2020).

Os taninos condensados (proantocianidinas) atuam nos atributos sensoriais do que se relaciona à adstringência e na coloração da bebida, por se agregarem com as antocianinas durante a maturação, além de agir em estabilização e clarificação por meio

de sua propriedade de complexação com macromoléculas e quelante de metais. (LIMA, 2010; PANCERI, 2014; SANTOS 2011). Responsável pela intensidade e tonalidade da cor, as antocianinas são encontradas principalmente na casca da uva presentes do mosto dos vinhos tintos e rosados. O envelhecimento do vinho pode atribuir teor podendo variar característica (SANTOS, 2020).

O papel indireto das antocianinas se deve à redução da percepção de adstringência resultada das estruturas tanino-antocianina. Inicialmente as antocianinas são encontradas em uvas, em formas monoméricas, graças à sua natureza reativa, inúmeras de reações e interações envolvendo antocianinas ocorre durante todo o processo vinificação e o envelhecimento. Os taninos, proantocianidinas, causando uma sensação de secagem conhecida como adstringência pois têm a capacidade de interagir com proteínas salivares, por meio de complexos macromoleculares que evoluem até se tornarem insolúveis e precipitarem da solução. (ALEIXANDRE-TUDO; DU TOIT, 2020).

A intensidade da cor aumenta significativamente nas amostras inoculadas com BAL de cepas diferentes. A elevação significativa no índice fenólico total é observado no vinho inoculado com a cepa LpATCC 14917 de *Lactobacillus* , enquanto um leve aumento, embora não estatisticamente representativo, é detectado em vinhos inoculados com a cepa *Oenococcus* no vinho Merlot (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

Ao avaliar os parâmetros de cor, descobrimos que alguns deles mudaram significativamente em comparação com ao quer não foi realizado FML (controle), até mesmo quando a FML não ocorreu bem (nenhum ácido L-málico foi consumido) em particularmente no vinho Merlot e Pinot noir. Mas quando ocorreu a FML (consumo de ácido L-málico), as alterações nesses parâmetros de cor foram ainda maiores. Alguns literaturas indicam que a variação, principalmente a redução da cor do vinho, pode ser conferida à absorção de polifenóis pelas paredes celulares do BAL, ao aumento do pH ou à cepa BAL envolvida no processo de vinificação (OLGUIN; DELFEDERICO; SEMORILE, 2020).

CONCLUSÃO

A fermentação malolática (FML) realizada pelas bactérias do ácido láctico (LAB), é desejada na maioria dos vinhos e espumantes. Graças as vantagens adquiridas deste processo, estas são a desacidifica o vinho devido à descarboxilação do ácido L-málico deixando mais macio, o melhoramento na estabilidade microbiológica por meio do consumo das restantes fontes de carbono e agregação de outros aromas ao vinho pela produção de metabólitos secundários e outros polifenóis.

Mais conhecimentos estão sendo obtidas graças à pesquisa e novas técnicas estão sendo aplicados no processo, quando a maior parte dos enólogos entenderem a importância de fazer o FML. Podemos compreender que diferentes cepas de BAL exercem atividade distinta, se comportam de maneira diferente conforme a variedade de vinho, quando bem-

sucedido modifica a cor, adstringência cheiro e amargura do vinho.

As cepas de *O. oeni*, e *Lb. Plantarum* são bactérias exigentes e imprevisíveis quando inoculadas em determinados vinho, justificadamente está a razão pela qual é tão importante continuar estudando a FML, para compreender como diferentes espécies e cepas de BAL reagem a diferentes químicas consequentemente na qualidade do vinho. Assim como a relevância da interação entre a fermentação alcoólica e FML para o perfil aromático do vinho, para compreender as vias metabólicas utilizadas pelas BAL para a síntese de seus compostos.

Estudos da análise do genoma de *Lb. plantarum* cepa enológica mostroue a presença de genes envolvidos no transporte e catabolismo de diferentes açúcares, na síntese de compostos do aroma do vinho, na biossíntese de aminoácidos e na produção de exopolissacarídeos e bacteriocinas. Bem que a presença do gene não é garantia de sua expressão durante o processo de vinificação vinificação, mas a analise e o sequenciamento do genoma da cepa UNQLp 11 nativa da Patagônia argentina nos permitiu associar fenótipos expressos por esta cepa em distintas condições de vinificação e irá aprimorar nossa compreensão de seu comportamento em futuros ensaios de vinificação.

REFERÊNCIAS

ALEIXANDRE-TUDO, J.L.; DU TOIT, W.J. **Evolution of Phenolic Composition During Barrel and Bottle** Aging. S. Afr. J. Enol. Vitic., Stellenbosch, v.41, n.2, p.233-237, 2020.

ANTALICK. G.; PERELLO. M.; REVEL. **G. Caracterização de Modificações de Aroma Frutado em Vinhos Tintos durante Fermentação Malolática.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Villenave d'Ornon. v. 60, n. 50, p. 12371-12383. Nov , 2012.

BRIZUELA, N. et al. ***Lactobacillus plantarum* como uma cultura inicial malolática na vinificação: Um novo (velho) jogador?.**Electron J Biotechnol. Argentina.v.38, p. 10-18. Mar. 2019.

HERNÁNDEZ. T. et al. **Contribuição da Fermentação Malolática por *Oenococcus Oeni* e *Lactobacillus Plantarum* para as Mudanças na Composição Polifenólica de Nonantocianina do Vinho Tinto.** J. Agric. Food Chem. Espanha. v. 55, n. 13, p. 5260–5266 . Mai, 2007

IGLESIAS, N.G. *et al.* **Complete Genome Sequencing of** *Lactobacillus plantarum* **UNQLp 11 Isolated from a Patagonian Pinot Noir Wine.** S. Afr. J. Enol. Vitic., Stellenbosch, v.41, n.2, p.197-209, 2020.

LIMA, Luciana Leite de Andrade. **Caracterização e estabilização dos vinhos elaborados no Vale do Submédio São Francisco.** 2010. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

MERCOSUL. **Regulamento vitivinícola do Mercosul Nº45/69.** Ministério da Agricultura e do Abastecimento. BRASIL.

OLGUIN, N. T.; DELFEDERICO, L.; SEMORILE, L. **Colour Evaluation of Pinot Noir and Merlot Wines after Malolactic Fermentation Carried out by *Oenococcus oeni* and Lactobacillus plantarum Patagonian Native Strains.** S. Afr. J. Enol. Vitic., Stellenbosch, v.41, n.2, p.210-217, 2020.

PEIXOTO, C. S. F. **Produção de compostos de enxofre por bactérias láticas do vinho durante a fermentação malolática.** UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA. Portugal, Jul, 2012.

PEREIRA, Matheus Marinho. **Controlo de qualidade e caracterização de vinhos e bebidas espirituosas**. 2019. Tese de Doutorado

REVEL. G. et al. **Interação de nococcus e compostos de madeira de carvalho.** Food Microbiology. Cedex. v. 22, n. 6, p. 569-575. Dez. 2005.

RIZZON, L; MIELE, A. **Acidez na vinificação em tinto das uvas Isabel, Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc.** Cienc. Rural, Santa Maria, v.32, n.3, p.511-515, Jun, 2002.

SANTOS, M. O. et al. **Análise físico-química de vinhos: um comparativo entre os vinhos do vale do São Francisco no Brasil e os vinhos do douro em Portugal.** Braz. J. of Develop., Curitiba, v.6, n.11, p.85354-85371, nov. 2020.

SANTOS, Mariele dos. **Análise cromática de vinhos tintos da variedade Cabernet Sauvignon do Rio Grande do Sul**. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

SUMBY. K.M.; BARTLE. L.; GRBIN. P. R. **Medidas para melhorar a fermentação malolática do vinho.** Appl Microbiol Biotechnol v. 103, p. 2033–2051. Mar. 2019.

WURZ, Douglas André et al. **Phenolic composition of wine from 'Cabernet Sauvignon' grapes subjected to leaf removal at different timing in Southern Brazil.** Pesq. agropec. bras., Brasília, v.55, e01919, 2020.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM MALTE FERMENTADO COM *AGARICUS BRASILIENSIS*

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 04/10/2021

Mariane Daniella da Silva
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) – Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Campus de São José do Rio Preto – Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/7389258838640476

Herta Stutz
Universidade Estadual do Centro-Oeste – Campus CEDETEG – Departamento de Engenharia de Alimentos, Guarapuava – Paraná
http://lattes.cnpq.br/4489383123499137

Fernanda Maria Pagane Guereschi Ernandes
Universidade de São José do Rio Preto (UNIP) – Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, São Paulo
http://lattes.cnpq.br/7947641813907493

Crispin Humberto Garcia-Cruz
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) – Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Campus de São José do Rio Preto – Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/3761109299906668

RESUMO: Atualmente o cogumelo da espécie *Agaricus brasiliensis* está sendo muito estudado por ser um alimento de alto valor nutritivo e que possui compostos fenólicos em sua estrutura química, apresentando ação antioxidante e beta glucanas, a principal substância capaz de estimular o sistema imunológico, além de, apresentar propriedades antitumorais, anti-inflamatórias, antivirais e antioxidantes. O malte é uma boa alternativa para substrato do cogumelo, pois, possui alta atividade antioxidante, além de elevado teor de proteínas, vitaminas e sais minerais. Este trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antioxidante em malte fermentado com o cogumelo *Agaricus brasiliensis* por meio de fermentação submersa. A cepa de *A. brasiliensis* foi cultivada em meio padrão composto por glicose, extrato de levedura e sais (pH 6.0) a 30 ºC e 120 rpm/7 dias. Posteriormente, o cultivo submerso foi realizado com 10 g de malte moído e seco e 5% da suspensão de micélio do cogumelo, foram incubados a 30 ºC por 7 dias em 120 rpm, sendo este o material utilizado para obtenção dos extratos para avaliação da atividade antirradicalar. O fermentado obtido do malte com micélio de *A. brasiliensis* e também do malte *in natura* tiveram sua atividade antioxidante avaliada pelo método de DPPH•. O extrato de malte fermentado com micélio de *A. brasiliensis* apresentou um bom potencial antioxidante, apesar de as análises revelarem uma maior capacidade antioxidante no extrato de malte *in natura*. Pois, a atividade antioxidante do malte *in natura* foi superior à observada no malte fermentado em cultivo submerso. No malte fermentado a concentração foi de 0,0547 $mg.L^{-1}$ que inibe 90% dos antioxidantes. Em extrato de

malte *in natura* essa mesma porcentagem é inibida com concentração de 0,0467 mg.L^{-1}. Portanto, os resultados revelaram uma alta atividade antioxidante do malte *in natura* e do cogumelo *Agaricus brasiliensis*.
PALAVRAS-CHAVE: *Agaricus blazei;* DPPH•; Cultivo submerso; Fermentação.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN MALT FERMENTED WITH *AGARICUS BRASILIENSIS*

ABSTRACT: Currently, the mushroom of the species *Agaricus brasiliensis* is being studied extensively as it is a food with high nutritional value and has phenolic compounds in its chemical structure, presenting antioxidant action and beta glucans, the main substance capable of stimulating the immune system, in addition to presenting anti-tumor, anti-inflammatory, antiviral and antioxidant properties. Malt is a good alternative for mushroom substrate, as it has high antioxidant activity, in addition to a high content of proteins, vitamins and minerals. This work aimed to evaluate the antioxidant activity in malt fermented with the mushroom *Agaricus brasiliensis* by means of submerged fermentation. The *A. brasiliensis* strain was cultivated in standard medium composed of glucose, yeast extract and salts (pH 6.0) at 30 ºC and 120 rpm/7 days. Subsequently, submerged cultivation was carried out with 10 g of ground and dry malt and 5% of the mushroom mycelium suspension, which were incubated at 30 ºC for 7 days at 120 rpm, this being the material used to obtain the extracts for activity evaluation antiradical. The fermentation obtained from malt with *A. brasiliensis* mycelium and also from fresh malt had its antioxidant activity evaluated by the DPPH• method. The malt extract fermented with *A. brasiliensis* mycelium showed a good antioxidant potential, although the analyzes revealed a greater antioxidant capacity in the fresh malt extract. The antioxidant activity of fresh malt was higher than that observed in malt fermented in submerged cultivation. In fermented malt the concentration was 0.0547 mg.L^{-1} which inhibits 90% of antioxidants. In in natura malt extract this same percentage is inhibited at a concentration of 0.0467 mg.L^{-1}. Therefore, the results revealed a high antioxidant activity of fresh malt and *Agaricus brasiliensis* mushroom.
KEYWORDS: *Agaricus blazei;* DPPH•; Submerged cultivation; Fermentation.

1 I INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, os orientais utilizam os cogumelos na alimentação devido a sua propriedade nutritiva e principalmente pelo alto poder medicinal. Atualmente, os componentes presentes nos cogumelos têm sido muito utilizados em pesquisas de substâncias antitumorais, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas (SMITH et. al., 2002; RODRIGUES et al., 2003).

Além de seus constituintes nutritivos, os cogumelos são considerados alimentos nutraceuticos, pois, apresentam polissacarídeos de ligação β (as βglucanas), isoladamente ou associados a proteínas para formar complexos glicoprotéicos de ligações (1□6) β-D-glucan-proteína. Apresentam também elevados teores de minerais, aminoácidos essenciais, vitaminas, fibras e altas concentrações de proteínas. Devido aos cogumelos produzirem compostos com efeitos farmacológicos são considerados medicinais. Estudos apresentam

que o consumo regular de cogumelos ou dos seus compostos bioativos são benéficos para a saúde (SOARES, 2009).

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* ss. Murill (=*Agaricus blazei*, *Agaricus subrufescens*), pertencente ao reino dos fungos, é também conhecido popularmente como Cogumelo de Piedade, Cogumelo da Vida, Cogumelo Princesa ou Cogumelo de Deus no Brasil e, no Japão como Himematsutake (DALLA SANTA et al., 2006). Essa espécie é originária da cidade de Piedade, em São Paulo, Brasil e o seu cultivo é feito nos meses mais quentes do ano.

A base primordial da pesquisa com cogumelos, principalmente do *Agaricus brasiliensis,* acontece, pois, os cogumelos são formados por uma vasta variedade de substancias químicas que são benéficas á saúde, como os polissacarídeos que estimulam o sistema imunológico e os compostos fenólicos (DALLA SANTA et al, 2009). Além de propriedades imunomoduladoras, possuem conteúdos efetivos na diminuição do colesterol, exercem atividades hipoglicêmicas, reduzem a pressão sanguínea e apresentam ação antioxidante (DALLA SANTA et al., 2010).

Os compostos fenólicos estão presentes em vegetais, sendo moléculas com ação antioxidante, cuja principal função é a defesa dos sistemas biológicos contra as reações que ocasionam oxidação das moléculas ou das estruturas celulares (VANNUCCHI; MARCHINI, 2007).

Portanto, esse trabalho tem como objetivo contribuir com o estudo de *Agaricus brasiliensis* com a avaliação do potencial antioxidante frente a outros sistemas oxidativos, quanto à presença e/ou produção de moléculas com ação antioxidante. Com isso, estima-se obter maiores informações sobre o efeito do desenvolvimento do micélio em malte quanto à presença e ou produção de moléculas com ação antioxidante.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* foi isolado do corpo de frutificação de uma cultura comercial adquirida no Paraná. Esta cepa encontra-se depositada na micoteca do laboratório de Cultivo de Cogumelos do Departamento de Engenharia de Alimentos da UNICENTRO. A cepa do cogumelo foi mantida em tubos de ensaio contendo meio batata dextrose ágar – BDA, com repiques a cada trimestre.

2.2 Preparo do inoculo e cultivo submerso

O inoculo foi conduzido em Erlenmeyers com meio Padrão contendo ($g.L^{-1}$): glicose (20,0), extrato de levedura (3,95), $MgSO_4.7H_2O$ (0,3), e $K_2HPO_4.3H_2O$ (0,5); com pH ajustado a 6,0 (± 0,2) em potenciômetro com NaOH 0,1N, esterilizados a 121ºC por 15 min. (FAN et al., 2003).

O cultivo submerso foi conduzido em Erlenmeyers (250 mL) contendo 10 g de malte moído e seco (2 a 0.8 mm), com ajuste do pH a 6,0 com solução de NaOH 0,1M, esterilizado (121ºC/15 min.) e inoculado com 5% da suspensão de micélio obtida do inoculo, incubado a 30 ºC por 7 dias em 120 rpm. Em seguida, o micélio foi filtrado em papel filtro Whatmann, seco em estufa a 45-50ºC e moídos a pó (>60 mesh), armazenado em frascos fechados a -18 ºC para mensuração da capacidade antioxidante.

2.3 Obtenção do extrato

Amostras (n=6) de material fermentado do cultivo submerso e do malte sem fermentar foram pesados (em torno de 0,050 g) então, adicionados 2 mL de metanol a 50%, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 60 min. à temperatura ambiente. Após, mistura foi centrifugada a 17400 *g* durante 15 min. e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 5 mL. Ao resíduo foi adicionado 2 mL de acetona 70%, homogeneizado, deixado em repouso por 60 min. à temperatura ambiente e centrifugado novamente nas mesmas condições. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume foi completado com água destilada. O conteúdo do balão volumétrico foi o extrato utilizado para a determinação da atividade antioxidante.

2.4 Determinação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos foi realizada pelo método DPPH•, baseado na captura do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes. O extrato foi adicionado a uma solução metanólica deste radical, e a redução do DPPH• pode ser acompanhada através do decréscimo da absorbância a 515 nm. Quando o DPPH• é reduzido por um antioxidante ou por radicais, a absorbância diminui (BRAND-WILLIANS et al., 1995). Os resultados foram expressos em % da redução da capacidade antioxidante ou como EC_{90} (concentração para inibir em 90% a absorbância inicial do radical DPPH•).

Os resultados foram analisados com teste Q para rejeição dos valores e expressos na forma de intervalo de confiança.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método DPPH• é bastante utilizado para avaliação da capacidade antioxidante. O composto orgânico 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) age como um sequestrante de radicais livres ou substâncias neutras capazes de estabilizá-lo. As moléculas com essa capacidade são as que possuem propriedades antioxidantes (BRAND-WILLIANS et al., 1995).

Ao analisar a atividade antirradicalar das frações do malte in natura e do malte fermentado com *A. brasiliensis* em termos de EC_{90} (concentração para inibir em 90% a absorbância inicial do radical DPPH•) se deve ter em conta que quanto menor o EC_{90}

melhor a atividade antirradicalar do extrato. Dessa maneira, a fração do extrato de malte in natura foi a que apresentou melhor atividade.

Mesmo que, a atividade antioxidante do malte in natura foi superior à observada no malte fermentado com *A. brasiliensis* em cultivo submerso no malte fermentado a concentração de 0,0547 mg.L^{-1} inibe 90% dos antioxidantes (Figura 1).

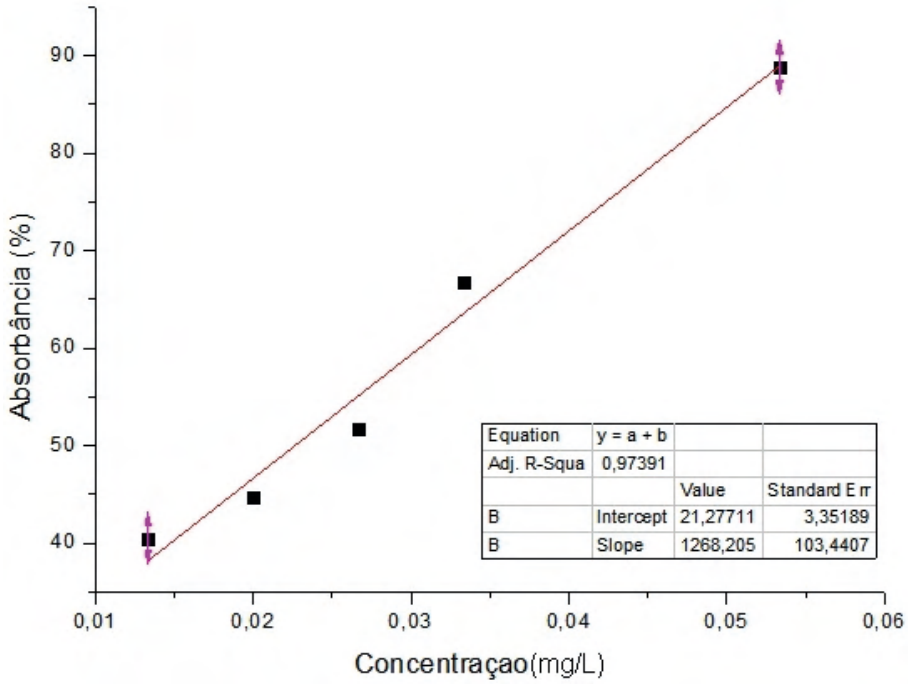


Figura 1 – Atividade antioxidante em extratos de malte fermentado com *Agaricus brasiliensis.*

Em extrato de malte *in natura* essa mesma porcentagem é inibida com uma menor concentração de 0,0467 mg.L^{-1} (Figura 2). Nas Figuras 1 e 2 o resultado de absorbância em % se refere a % de inibição frente à capacidade antioxidante, ou seja, a mínima concentração necessária de antioxidante para inibir a concentração de radical.

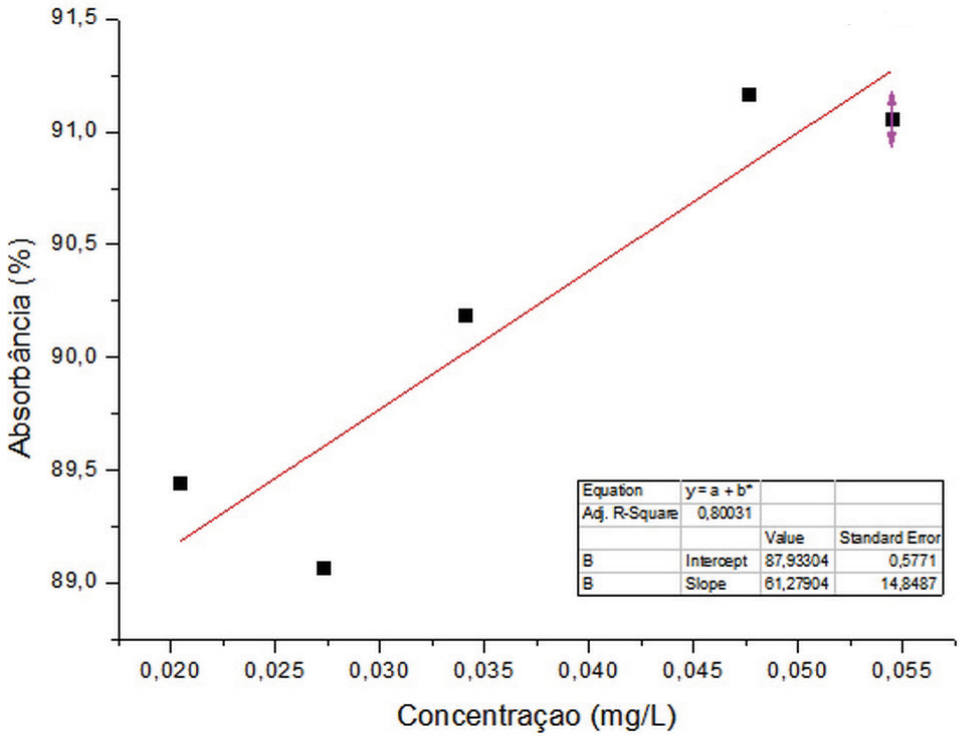


Figura 2 – Atividade antioxidante em malte *in natura*.

Em pesquisa, Soares (2009) testou corpos de frutificação de *A. brasiliensis* em diferentes estágios de maturidade, frente a sistemas oxidativos como o método de inibição da peroxidação lipídica com ácido linoléico e caroteno, bem como avaliação antioxidante frente a DPPH•, habilidade de quelação de íon ferroso. Os resultados obtidos deste experimento comprovam a eficácia da atividade antioxidante do cogumelo *A. brasiliensis*. Há relatos de que o micélio também possua atividade antioxidante, testado frente à DPPH• e quelação de íons ferroso (KER et al., 2005).

Para uma molécula ser caracterizada como um antioxidante essa deve prevenir ou retardar a oxidação, mesmo se encontrando em concentrações menores que o substrato a ser oxidado (SILVA; JORGE, 2011).

Os pesquisadores Elmastas et al. (2007) avaliaram extratos metanólicos de algumas espécies de cogumelos que apresentaram significativas atividades antioxidantes em pesquisa in vitro. Esses autores afirmaram por meio da sua pesquisa que os cogumelos podem ser usados como fonte natural de antioxidantes, como suplemento alimentar ou na indústria farmacêutica, pois, os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos (ELMASTAS et al. 2007).

4 | CONCLUSÕES

O extrato de malte fermentado com micélio de *Agaricus brasiliensis* apresentou bom potencial antioxidante, mesmo que, as análises revelaram um teor um pouco mais elevado da capacidade antioxidante no extrato de malte *in natura*.

REFERÊNCIAS

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, v.28, p.25-30. 1995.

DALLA SANTA, H. S. Efeitos no metabolismo e ação imunomoduladora em camundongos do micélio de Agaricus brasiliensis produzido por cultivo no estado sólido. Tese de doutorado em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Saúde Humana e Animal; 192 p., 2006.

DALLA SANTA, H. S.; RUBEL R.; VITOLA F. M. D.; LEIFA F.; TARARTHUCH A. L.; LIMA FILHO, C. J. H.; FIGUEIREDO B. C.; DALLA SANTA, O. R.; RAYMUNDO, M. S.; HABU, S.; SOCCOL, C. R. Kidney function indices in mice after long intake of Agaricus brasiliensis mycelia (=Agaricus blazei, Agaricus subrufescens) produced by solid state cultivation. Online Intenational Journal of Biological Sciences, 9, 21-28, 2009.

DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; FERNANDES, L. C.; BONATTO, S. J. R.; BELLO, S. R.; MONTEIRO, M. C.; KHALIL, N. M.; DALLA SANTA, O. R.; SOCCOL, C. R.; GERN, J. C.; SANTOS, C. A. M. Agaricus brasiliensis-enriched functional product promotes in mice increase in HDL levels and immunomodulate to Th1 CD4+T subsets. A. brasiliensis functional product and biological benefi ts. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, v. 4, n. 4, p. 957-970, 2010.

ELMASTAS M, ISILDAK O, TURKEKUL I, TEMUR N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. J Food Compos Anal 2007;20(3-4):337-45.

RODRIGUES, S.B.; JABOR, I.A.S.; MARQUES-SILVA, G.G.; ROCHA, C.L.M.S.C. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo-do-sol (Agaricus blazei) no sistema menthG1 em Aspergillus (=Emericella) nidulans. Acta Scientiarum, v.25, p.513-517, 2003.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. Cient Cienc Biol Saúde, 13:375-84, 2011.

SMITH, J. ROWAN, N. J. SULLIVAN, R. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.

SOARES, A. A. Atividade antioxidante e compostos fenólicos do cogumelo Agaricus blazei Murrill / Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, área de concentração: Biologia Celular; 58 p., 2007.2009.

VANNUCCHI, H.; MARCHINI, J. S. Nutrição Clínica. Nutrição e Metabolismo. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 417-430, 2007.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* APÓS INCORPORAÇÃO EM CHOCOLATES ARTESANAIS COM ALTO TEOR DE CACAU

Data de aceite: 01/11/2021

Data de submissão: 13/12/2021

Kassiany Pedroso Dalmora
Universidade Positivo, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial
Curitiba, Paraná
http://lattes.cnpq.br/2616293150598209

Thabata Maria Alvarez
Universidade Positivo, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial
Curitiba, Paraná
http://lattes.cnpq.br/2616293150598209

RESUMO: O mercado de alimentos funcionais tem como base a utilização de substâncias bioativas que trazem benefícios à saúde, além das próprias características nutricionais do alimento. Há um crescente interesse em alimentos que contenham microrganismos probióticos, em virtude dos benefícios para a saúde humana. Comumente, alimentos lácteos são utilizados como matrizes para incorporação de probióticos, porém não são adequados para todos os consumidores. Neste contexto, chocolates com alto teor de cacau (>70%) elaborados sem derivados lácteos, constituem uma opção de veiculação de probióticos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade celular de probióticos incorporados em barras de chocolates artesanais com o mínimo de 70% de cacau. Inicialmente foram confeccionadas amostras de chocolate com o mínimo de 70% de cacau de duas variedades, sendo elas SJ02 e Parazinho. Em seguida, amostras liofilizadas do probiótico *Lactobacillus plantarum* foram incorporados ao chocolate com e sem adição de 20% manteiga de cacau. Posteriormente, foi realizado o acompanhamento da viabilidade celular dos microrganismos pela contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) após estocagem a 4 e 25 °C, em intervalos de tempo regulares. Após 30 dias de estocagem, tanto a 4 ºC como 25 ºC, foi observada viabilidade celular acima de 10^8 UFC/g em todas as condições testadas. No caso do armazenamento durante 60 dias a 25 ºC, foi observado que todas as condições testadas na presença de manteiga de cacau apresentaram valores de viabilidade celular abaixo de 10^8 UFC/g, o que também foi observado no caso da variedade Parazinho, na presença de manteiga de cacau, por 60 dias, a 4 ºC. Sendo assim, observou-se que os chocolates contendo formulação mínima de 70% de cacau demonstraram ser uma potencial matriz para incorporação de probióticos, sem a indicação da necessidade de adição de manteiga de cacau para manutenção da viabilidade celular dos probióticos nas condições avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos funcionais, probióticos, manteiga de cacau, chocolate intenso.

EVALUATION OF CELL VIABILITY OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* AFTER INCORPORATION IN HANDMADE CHOCOLATES WITH HIGH COCOA CONTENT

ABSTRACT: The functional food market is based on the use of bioactive substances that promote health benefits, in addition to the food's own nutritional characteristics. There is a growing interest in foods that contain probiotic microorganisms, due to the benefits for human health. Dairy foods are commonly used as matrices for the incorporation of probiotics, but they are not suitable for all consumers. In this context, chocolates with a high cocoa content (>70%) made without dairy products are an option for the delivery of probiotics. The aim of this work was to evaluate the cell viability of probiotics incorporated in handmade chocolate bars with minimum of 70% cocoa. Initially, chocolate samples were made with minimum of 70% cocoa formulation from two cocoa varieties SJ02 and Parazinho. Then, lyophilized samples of the probiotic *Lactobacillus plantarum* were incorporated into chocolate with and without the addition of 20% cocoa butter. Then, the monitoring of the cellular viability of the microorganisms was carried out by counting colony-forming units (CFU) after storage at 4 and 25 °C, at regular intervals of time. After 30 days of storage, both at 4 ºC and 25 ºC, cell viability above 10^8 CFU/g was observed in all conditions tested. In the case of storage for 60 days at 25 ºC, it was observed that all conditions tested in the presence of cocoa butter presented values of cell viability below 10^8 CFU/g, which was also observed in the case of the Parazinho variety, in the presence of cocoa butter, for 60 days, at 4 ºC. Thus, it is observed that chocolates containing minimum of 70% cocoa formulation proved to be a potential matrix for incorporation of probiotics, without indicating the need to add cocoa butter to maintain the cell viability of the probiotics under the conditions evaluated.
KEYWORDS: Functional food, probiotics, cocoa butter, dark chocolate.

INTRODUÇÃO

A população tem se tornado cada vez mais consciente em relação à alimentação e seus efeitos na saúde. Neste sentido, o interesse por alimentos funcionais é crescente, o que inclui a categoria dos alimentos que possuem probióticos em sua composição (STANTON *et al.,* 2015). Dentre os benefícios dos probióticos, destaca-se sua ação na microbiota intestinal humana produzindo efeitos antagônicos à proliferação de bactérias prejudiciais, com consequente reforço ao mecanismo de defesa humano (GROVER et al., 2012).

Para conferir benefícios ao hospedeiro, os probióticos precisam sobreviver ao pH do estômago, de modo a atingir o intestino delgado e efetuar a colonização. Visando melhorar a viabilidade dos microrganismos probióticos durante o trânsito gástrico, algumas técnicas são utilizadas, entre elas, microencapsulação (COOK et al., 2012) e imobilização (MITROPOULOU et al., 2013). Além disso, alimentos ricos em lipídios podem auxiliar na manutenção da culturabilidade de microrganismos (LAHTINEN et al., 2007).

Bactérias láticas com identidade para *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus plantarum,* isoladas da fermentação do cacau, foram avaliadas em relação às características

probióticas. Como resultado, foi observado que duas cepas de *L. plantarum* apresentaram potencial para uso como probiótico, uma vez que apresentaram tolerância a condições de pH baixo e presença de sais biliares, além de terem apresentado capacidade de aderência a células do epitélio intestinal em testes in vitro (RAMOS et al., 2013).

Com isso, a fermentação do cacau se tornou uma fonte de prospecção de microrganismos com características probióticas para inserção em diversos alimentos (RAMOS et al., 2013). Além disso, o próprio chocolate se apresenta como uma opção de veículo para esses microrganismos (KONAR et al., 2016).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do chocolate elaborado com duas variedades de cacau, Trinitário e Parazinho, de origem brasileira, contendo teor mínimo de 70% de cacau, como matriz carreadora para a cepa comercial probiótica de *Lactobacillus plantarum.*

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração do chocolate

Duas variedades de cacau, Parazinho e Trinitário SJ02, foram utilizadas no presente estudo para a elaboração dos chocolates. Aproximadamente 2 kg de amêndoas da variedade Parazinho provenientes da fazenda Santa Rita – Uruçuca/BA e aproximadamente 2 kg de amêndoas da variedade SJ02 provenientes da fazenda Estrela do Sul – Belmonte/BA foram pesadas e torradas no forno da marca Prática miniconv, por cerca de 35 minutos a 125 º C. As amêndoas foram descascadas manualmente, separando a casca do nibs. Em seguida, os nibs de cacau foram colocados na melanger da marca Spectra 11 para o refino por aproximadamente 4 horas. Posteriormente, foi adicionado o açúcar para ser refinado juntamente com o cacau por aproximadamente 14 horas. A conchagem foi realizada na melanger da marca Spectra 11 durante 6 horas. A etapa de temperagem foi realizada manualmente em mesa de mármore com auxílio de espátula em sala climatizada. Para evitar a exposição dos probióticos a altas temperaturas, a inclusão dos mesmos no chocolate ocorreu na etapa de temperagem, realizada entre 34 º C - 45 º C.

A motivação para escolha do microrganismo *L. plantarum* para incorporação no chocolate artesanal foi em função de se tratar de uma espécie previamente encontrada na fermentação do cacau, demonstrando resistência a condições de pH ácido (RAMOS et al., 2013). Foi utilizada cepa comercial de *Lactobacillus plantarum*, adquirida em farmácia local, na forma de cápsulas, contendo preparação liofilizada do microrganismo.

A Tabela 1 apresenta as diferentes condições testadas em triplicata no presente trabalho. A condição denominada como “A” indica as amostras de chocolate com probióticos incorporados sem a prévia homogeneização em manteiga de cacau enquanto a condição B indica as amostras de chocolate com probiótico incorporado após a homogeneização em manteiga de cacau. A manteiga de cacau utilizada na formulação dos chocolates foi

extraída do cacau da variedade Parazinho através de uma máquina extrusora da marca Eurolume, que faz a separação da manteiga do pó de cacau. Os microrganismos foram misturados com a manteiga de cacau, de acordo com Lahtinen et al., 2007, com algumas modificações. Inicialmente, foi pesado 0,3 g do preparado liofilizado de *L. plantarum*, que foi adicionado diretamente em 0,3 g manteiga de cacau previamente derretida a 45 ° C. Esta mistura foi incorporada a 1 g de chocolate (variedade SJ02 e Parazinho) na etapa de temperagem a 33 ° C. Para finalizar a temperagem, o chocolate foi posto em mesa de mármore e depois colocado em moldes de acetato com 1,5 cm de diâmetro, seguido por resfriamento a 10 ° C. Após essa etapa, as amostras de chocolate foram embaladas em papel alumínio e armazenados a 4 ºC e 25 ºC, durante 30 e 60 dias.

Além disso, também foram preparadas amostras de chocolate controles sem probiótico e/ou manteiga de cacau, denominadas de C e D, na Tabela 1.

Identificação	Variedade de cacau	Condição
AS	SJ02	A = Chocolate (0,70 g de cacau + 0,30 g de açúcar) + probiótico (0,30 g)
BS	SJ02	B = Chocolate (0,70 g de cacau + 0,30 g de açúcar) + probiótico (0,30 g) + manteiga (0,30 g)
AP	Parazinho	A = Chocolate (0,70 g de cacau + 0,30 g de açúcar) + probiótico (0,30 g)
BP	Parazinho	B = Chocolate (0,70 g de cacau + 0,30g de açúcar) + probiótico (0,30 g) + manteiga (0,30 g)
CSP	SJ02 + Parazinho	C = chocolate (0,70 g de cacau + 0,30 g de açúcar)
DSP	SJ02 + Parazinho	D = chocolate (0,70 g de cacau + 0,30 g de açúcar) + manteiga (0,30 g)

Tabela 1 – Formulação das amostras de chocolate probiótico.

Fonte: O autor (2019).

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA NAS AMOSTRAS DE CHOCOLATE

Logo após o preparo dos chocolates (tempo zero) foi avaliada a atividade de água das amostras de chocolates das condições A e B. A atividade de água foi realizada com o objetivo de obter um controle de qualidade inicial das amostras de chocolate e foi medida a partir do equipamento Aqualab Series 3, marca Decagon. Inicialmente o equipamento foi

calibrado com água deionizada. O chocolate probiótico das amostras teste A e B contendo 1,5 g foi cortado em pedaços menores e inserido até a metade do volume do copo de amostra e colocado no equipamento. A medição foi realizada pelo sensor de ponto de orvalho, e os resultados expresso entre 0 e 1. Os testes foram realizados em triplicata em temperatura ambiente.

AVALIAÇÃO DO PH DAS AMOSTRAS DE CHOCOLATE

O pH foi avaliado como controle de qualidade inicial nas amostras de chocolate. Para medir o pH das amostras foi utilizado o pHmetro de bancada PG2000 da marca GEHAKA. Para os testes, 1,5 g de amostra dos testes A e B (Tabela 1) foram adicionados em 15 ml de água deionizada. A mistura foi derretida em banho maria a 37 ºC e depois mantida sob agitação até a amostra ficar homogênea, e então registrado o pH da amostra a partir de um potenciômetro (SILVA et al., 2016). A análise foi realizada no período zero, após a confecção do chocolate com probiótico em temperatura ambiente, em duplicata.

ANÁLISE DA VIABILIDADE DOS MICRORGANISMOS APÓS A INCORPORAÇÃO AO CHOCOLATE

Inicialmente, amostras AS, BS, AP e BP (Tabela 1), em triplicata, foram derretidas em banho maria a 37 ºC, submetidas a diluições seriadas em água peptonada (10 g/L de peptona, 5 g/L de cloreto de sódio e água deionizada), e as diluições 10^{-4} a 10^{-6} foram plaqueadas em placas de Petri pelo método de superfície em meio ágar MRS. As placas foram incubadas a 37 º C por 48 horas para posterior contagem de UFC/g de chocolate. O mesmo foi realizado com as amostras estocadas por 30 e 60 dias, nas temperaturas de 4 ºC e 25 ºC. Os testes CSP e DSP (Tabela 1) foram realizados após confecção (tempo zero) das amostras de chocolate, seguindo a metodologia descrita acima.

É importante destacar que as amostras submetidas aos estudos de viabilidade eram independentes, tendo sido preparadas todas em um mesmo lote, e cada amostra foi plaqueada por completo após atingir o tempo de incubação determinado, não havendo fracionamento da amostra para plaqueamento ao longo do tempo.

Os dados de viabilidade celular das diferentes condições foram comparados pelo teste t-Student através da ferramenta “QuickCalcs – GraphPad”, disponível em: https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1/?Format=SD

RESULTADO E DISCUSSÃO

Características físico-químicas dos chocolates produzidos

A atividade de água é expressa em valores entre 0 e 1 e seu resultado influencia

na viabilidade do probiótico incorporado na matriz alimentar, pois eles podem se manter metabolicamente ativos ou inativos dependendo do valor de atividade de água (VESTERLUN; SALMINEN; SALMINEN, 2012).

As amostras BS apresentaram atividade de água média de 0,55 ± 0,001, enquanto as amostras AS apresentaram média de 0,54 ± 0,001. As amostras de chocolate BP apresentaram a média dos valores de atividade de água de 0,52 ± 0,002 e as amostras AP apresentaram média de 0,53 ± 0,001. Os valores expressos no presente trabalho, abaixo de 0,6, são compatíveis com a literatura, demonstrando que os chocolates confeccionados apresentaram baixa atividade de água, compatível com a segurança microbiológica do alimento (SILVA et al., 2016).

Silva realizou testes mensais de atividade de água durante 120 dias nas amostras de chocolate amargo suplementadas com probióticos *Lactobacillus acidophilus* LA3 e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1, armazenadas a 25 ° C, e todas as análises apresentaram valores abaixo de 0,6 (SILVA et al., 2016). Vesterlund, Salminen e Salminen analisaram a influência de três valores de atividade de água (0,11; 0,22 e 0,43) em matriz alimentícia de linhaça com probióticos da linhagem *Lactobacillus rhamnosus* GG durante 14 meses em temperatura ambiente. Após as análises, foi observado que os maiores valores de estabilidade, estiveram associados à condição de menor atividade de água.

Em relação ao pH, as amostras de chocolate probiótico AS apresentaram média dos resultados de pH de 7,16. As amostras BS tiveram valores de 7,22. As amostras de chocolate probiótico BP expressaram valores de média de pH de 7,17 e as amostras AP valores 7,27. Esses valores se mostram mais elevados quando comparados a outros trabalhos que envolveram a incorporação de probióticos em chocolates. Silva verificou o pH das amostras de chocolate suplementadas com *Lactobacillus acidophillus* (LA3) e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (BLC1) microencapsulados, e todas as amostras apresentaram valores de pH em um intervalo de 5,66 a 5,82 durante 120 dias de estocagem a 25 ºC (SILVA et al., 2016). Foong avaliou o pH de chocolate amargo com *L. plantarum* incorporado e obteve valores de pH entre 6,2 e 6,5 ao longo de três meses de estocagem das amostras de chocolate a 4 ºC (FOONG et al., 2013).

DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DOS PROBIÓTICOS ANTES E APÓS A INCORPORAÇÃO AOS CHOCOLATES

As condições CSP (chocolate formulado com as variedades SJ02 e Parazinho) e DSP (chocolate formulado com as variedades SJ02 e Parazinho e manteiga de cacau) que foram plaqueadas em meio MRS como controle, após 24 horas da confecção do chocolate, não tiveram nenhuma unidade formadora de colônia, conforme esperado.

As Tabelas 2 e 3 apresentam os resultados da viabilidade celular (em UFC/g de chocolate) dos probióticos incorporados logo após a elaboração dos chocolates (tempo

zero) e após 30 e 60 dias de armazenamento em temperaturas de 25 ° C e 4 ° C, respectivamente.

Amostra	Tempo zero	30 dias	60 dias
	Temperatura ambiente	25 ° C	25 ° C
	Média ± Desvio Padrão		
AS	$3,84.10.^{8} \pm 3,79.10^{8}$	$4,26.10^{8} \pm 3,02.10^{8}$	$6,43.10^{8} \pm 4,4.10^{8}$
BS	$1,13.10.^{8} \pm 1,9.10^{7}$	$2,39.10^{8} \pm 1,57.10^{8}$	$3,6.10^{7} \pm 2,8.10^{7}$ *
AP	$1,55.10^{8} \pm 1,3.10^{7}$ ∇	$1,35.10^{8} \pm 2,8.10^{7}$	$1,21.10^{8} \pm 5.10^{7}$ ∇
BP	$9.10^{6} \pm 5.10^{6}$	$1,68.10^{8} \pm 3,6.10^{7}$ *	$4,5.10^{6} \pm 5.10^{5}$

Tabela 2 – Enumeração do *Lactobacillus plantarum* em UFC/g nas amostras de chocolate com probiótico em tempo zero armazenada em temperatura ambiente e após 30 e 60 dias em temperaturas 25 ° C. O símbolo de (*) indica os casos em que houve diferença significativa (p-valor £ 0,05) entre amostras da mesma condição (AS, BS, AP, BP) após estocagem a 30 ou 60 dias, quando comparadas com tempo zero em temperatura ambiente. O símbolo (Ñ) indica os casos em que houve diferença significativa (p-valor £ 0,05) após comparação das amostras com manteiga de cacau adicionada em relação às amostras sem manteiga de cacau adicionada, quando analisadas em um mesmo tempo (AS_{Tzero} x BS_{Tzero}, $AS_{T30\ dias}$ x $BS_{T30\ dias}$, $AS_{T60\ dias}$ x $BS_{T60\ dias}$, AP_{Tzero} x BP_{Tzero}, $AP_{T30\ dias}$ x $BP_{T30\ dias}$ e $AP_{T60\ dias}$ x $BP_{T60\ dias}$).

Fonte: O autor (2019).

Como observado na Tabela 2, as condições que apresentaram diferença em comparação ao tempo zero foram BS após 60 dias de armazenamento a 25 ° C, na qual foi observada uma diminuição na viabilidade celular de *L. plantarum* e BP após 30 dias a 25 ° C, na qual foi observado um aumento no número de células viáveis do probiótico adicionado. No caso da amostra BS 60 dias, o resultado indica uma possível perda de viabilidade celular após 60 dias de estocagem, atingindo valores menores que 10^{8} UFC/g. No entanto, a condição BP após estocagem a 30 dias, apresentou aumento da viabilidade celular, o que pode indicar uma possível atividade metabólica dos microrganismos durante este período de estocagem, com posterior decréscimo após os 30 dias subsequentes. Por fim, observa-se que a 25 ° C, todas as condições envolvendo a variedade SJ02 (AS e BS) apresentaram viabilidade celular acima de 10^{8} UFC/g no tempo zero e após 30 dias de estocagem, enquanto a condição AP apresentou características probióticas em todas as condições testadas nesta mesma temperatura.

Amostra	Tempo zero	30 dias	60 dias
	Temperatura ambiente	4 ° C	4 ° C
	Média ± Desvio Padrão		
AS	$3,84.10^{8} \pm 3,79.10^{8}$	$2,53.10^{8} \pm 2,31.10^{8}$	$6,39.10^{8} \pm 4,4.10^{8}$

BS	$1,13.10^8 \pm 1,9.10^7$	$1,68.10^8 \pm 2,5.10^7$ *	$2,92.10^8 \pm 2,67.10^8$
AP	$1,55.10^8 \pm 1,3.10^7$ ▽	$1,76.10^8 \pm 5,2.10^7$	$3,68.10^8 \pm 3,65.10^8$
BP	$9.10^6 \pm 5.10^6$	$1,39.10^8 \pm 3,1.10^7$ *	$5.10^6 \pm 1.10^6$

Tabela 3 – Enumeração do *Lactobacillus plantarum* em UFC/g nas amostras de chocolate com probiótico em tempo zero armazenada em temperatura ambiente e após 30 e 60 dias em temperaturas 4 ° C. O símbolo de (*) indica os casos em que houve diferença significativa (p-valor ≤ 0,05) entre amostras da mesma condição (AS, BS, AP, BP) após estocagem a 30 ou 60 dias, quando comparadas com tempo zero em temperatura ambiente. O símbolo (▽) indica os casos em que houve diferença significativa (p-valor ≤ 0,05) após comparação das amostras com manteiga de cacau adicionada em relação às amostras sem manteiga de cacau adicionada, quando analisadas em um mesmo tempo (AS_{Tzero} x BS_{Tzero}, $AS_{T30\ dias}$ x $BS_{T30\ dias}$, $AS_{T60\ dias}$ x $BS_{T60\ dias}$, AP_{Tzero} x BP_{Tzero}, $AP_{T30\ dias}$ x $BP_{T30\ dias}$ e $AP_{T60\ dias}$ x $BP_{T60\ dias}$).

Fonte: O autor (2019)

De acordo com a Tabela 3, as amostras que apresentaram diferença em comparação ao tempo zero foram BS e BP após estocagem de 30 dias a 4 ° C. Nas duas amostras, o resultado indica um aumento de viabilidade celular após 30 dias de estocagem. No entanto, a condição BP após estocagem a 60 dias, obteve uma queda da viabilidade celular abaixo de 10^8 UFC/g. Por fim, observa-se que a 4 °C, todas as condições envolvendo a variedade SJ02 (AS e BS) e Parazinho (AP e BP) apresentaram viabilidade celular acima de 10^8 UFC/g após 30 dias, enquanto que após 60 dias de estocagem, apenas as médias das condições AS, BS e AP se mantiveram acima de 10^8 UFC/g.

A comparação dos valores de viabilidade celular para as diferentes variedades considerando um mesmo tempo (AP x AS; BP x BS), tanto a 25 °C como a 4 °C, mostrou que não houve diferença entre os valores, indicando que as variedades de cacau utilizadas no estudo não interferiram na viabilidade celular dos probióticos considerando o mesmo período de estocagem. O mesmo também foi observado ao se comparar as amostras elaboradas nas mesmas condições e estocadas pelo mesmo período de tempo, porém incubadas em temperaturas diferentes ($AS_{4\,^oC}$ X $AS_{25\,^oC}$, $AP_{4\,^oC}$ X $AP_{25\,^oC}$, $BS_{4\,^oC}$ X $BS_{25\,^oC}$ e $BP_{4\,^oC}$ X $BP_{25\,^oC}$), demonstrando que nesses casos, a temperatura de incubação não interferiu na viabilidade celular dos microrganismos.

A comparação dos valores da viabilidade celular considerando apenas a adição ou não de manteiga de cacau, em cada um dos tempos de estocagem (AS_{Tzero} x BS_{Tzero}, $AS_{T30\ dias}$ x $BS_{T30\ dias}$, $AS_{T60\ dias}$ x $BS_{T60\ dias}$, AP_{Tzero} x BP_{Tzero}, $AP_{T30\ dias}$ x $BP_{T30\ dias}$ e $AP_{T60\ dias}$ x $BP_{T60\ dias}$) apresentou diferença significativa na comparação entre as amostras AP_{Tzero} x BP_{Tzero} (Tabela 2 e 3) e $AP_{T60\ dias}$ x BP_{T60} dias a 25 °C (Tabela 2), de modo que em todos os casos, a adição de manteiga resultou na diminuição da viabilidade celular, que atingiram valores inferiores a 10^8 UFC/g. Por fim, observa-se que todas as condições envolvendo a variedade SJ02, não sofreram alteração na viabilidade celular em virtude da adição de manteiga de cacau em nenhuma das temperaturas consideradas.

Possemiers incorporou uma mistura probiótica microencapsulada de *Lactobacillus*

helveticus CNCM I-1722 e *Bifidobacterium longum* CNCM 3470 em chocolate amargo e ao leite. Ao verificar a taxa de viabilidade dos microrganismos quanto à passagem no trato gastrointestinal simulado, obteve valores de taxa de sobrevivência de 91% e 80% para *L. helveticus* e e *B. longum,* respectivamente, em chocolate ao leite, os quais foram superiores ao encontrado no chocolate amargo (POSSEMIERS et al., 2010).

Pedroso avaliou a manteiga de cacau como agente encapsulante através da tecnologia de *spray chilling* dos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. No caso do *L. acidophilus,* as células microencapsuladas apresentaram maior resistência aos fluidos gástricos e intestinais simulados em comparação a condição com as células livres. Os autores relacionaram esse resultado a possível proteção oferecida pelas micropartículas lipídicas produzidas com manteiga de cacau (PEDROSO et al., 2012).

Lahtinen comparou dois agentes encapsulantes, base de amido (batata) e lipídio (manteiga de cacau) para proteção de duas linhagens de *Bifidobacterium longum* incorporadas em bebidas fermentadas e não fermentadas de aveia armazenadas a 4 °C por quatro semanas. Nos testes os microrganismos encapsulados na manteiga de cacau demonstraram melhores resultados quanto à culturabilidade em comparação à base de amido, sugerindo que a matriz lipídica ofereceu proteção contra o estresse, provavelmente impossibilitando a exposição das células à água e fatores de estresse, como íons H + (LAHTINEN et al., 2007).

Foong observou diminuição da viabilidade probiótica dos *L. plantarum* incorporados em chocolate amargo de 8 log ufc/g para 6,5 log ufc/g após três meses de armazenamento das amostras de chocolate a 4 ºC, representando uma taxa de sobrevivência de 81.25% (FOONG et al., 2013).

No presente estudo foram testados dois tempos de estocagem, 30 dias e 60 dias e duas temperaturas de estocagem, 25 ºC que se assemelha às condições reais de armazenamento de chocolates em temperatura ambiente e a 4 ºC, de modo a avaliar se em menores temperaturas poderia ocorrer maior preservação da viabilidade celular dos probióticos. Com os dados obtidos apresentados nas Tabelas 2 e 3, considerando o armazenamento por 30 dias, todas as condições (AS, BS, AP, BP) estocadas a 25 ºC e 4 ºC apresentaram um número de células viáveis acima de 10^8 UFC/g. No entanto, após os 30 dias subsequentes a 25 ºC, totalizando 60 dias de armazenamento, as condições BS e BP tiveram queda no valor de UFC/g e as condições AS e AP permaneceram com células acima de 10^8 UFC/g. No entanto, as análises em 60 dias a 4 ºC apresentaram valores mais promissores, visto que apenas a condição BP apresentou viabilidade celular abaixo de 10^8 UFC/g.

CONCLUSÃO

Verificou-se que a abordagem realizada para incorporação de *L. plantarum* em

chocolates artesanais contendo teor mínimo de 70% cacau feitos com as variedades SJ02 e Parazinho, tanto com e sem a incorporação de manteiga de cacau permitiu a manutenção da viabilidade celular dos probióticos após estocagem a 25 ºC e 4 ºC durante trinta dias. No caso do armazenamento durante 60 dias a 25 ºC, foi observado que as condições na presença de manteiga de cacau apresentaram redução na viabilidade celular, o que também foi observado no caso da variedade Parazinho, na presença de manteiga de cacau, por 60 dias, a 4 ºC.

Os chocolates produzidos com elevado teor de cacau revelaram ser um potencial veículo transportador de probióticos. Formulações mínimas de 70% cacau foram utilizadas com sucesso com essa finalidade, além de não apresentarem ingredientes de origem animal, favorecendo o consumo pela população vegana e intolerante à lactose.

O presente estudo sugere que é possível combinar os benefícios de um chocolate feito com cacau de origem brasileira e probióticos da linhagem comercial de *Lactobacillus plantarum*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Positivo pelo acesso à infraestrutura e suporte técnico e à Msc. Fernanda Gabriela Henning pelo auxílio nas análises referentes à atividade de água.

REFERÊNCIAS

COOK, M. T. *et al.* Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **J. Control Release**, v. 162, n.1, 56-67, 2012.

FOONG. Y. J *et al.* Incorporation of potential probiotic Lactobacillus plantarum isolated from fermented cocoa beans into dark chocolate: bacterial viability and physicochemical properties analysis. **J. Food Qual.**, v36, p. 164 – 171, 2013.

GROVER, S. *et al.* Probiotics for human health -new innovations and emerging trends. **Gut pathog.**, v. 4, n. 15, p.1-14, 2012.

KONAR, N. *et al.* Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 49, p. 35-44, 2016.

LAHTINEN, S. *et al.* Effect of starch- and lipid-based encapsulation on the culturability of two *Bifidobacterium longum* strains. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 44, p. 500-505, 2007.

MITROPOULOU, G. *et al.* Y. Immobilization technologies in probiotic food production. **J. Nutr. Metab.**, v.2013, 1-15, 2013.

PEDROSO, D.L.; DOGENSKI, M.; THOMAZINI, M.; HEINEMANN, R.J.B.; FAVARO-TRINDADE. C.S. Microencapsulation of Bifidobacterium animalis subsp. Lactis and Lactobacillus acidophilus in cocoa butter using spray chilling technology. **Braz. J. Microbiol**., v. 44, p. 777-783, 2012.

POSSEMIERS, S. *et al.* Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. **Int. J. Food Microbiol**., v. 141, p. 97-103, 2010.

RAMOS, C. L. *et al.* Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum, Lactobacillus plantarum and Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. **Food Microbiol.**, v. 36, p. 22 – 29, 2013.

SILVA, M. P. *et al.* Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **LWT**, v. 75, p. 640-647, 2016.

STANTON, C. *et al.* Market potential for probiotics. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p. 476-483, 2001.

VESTERLUND, S.; SALMINEN, K.; SALMINEN, S. Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. **Int. J. Food Microbiol.,** v. 157, p. 319-321, 2012.

CAPÍTULO 4

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA: USO DO MESOCARPO DE BABAÇU NAS ÁREAS DE ALIMENTOS, FÁRMACOS E COSMÉTICOS

Data de aceite: 01/11/2021

Itaceni de Araújo Sousa
Curso de Nutrição, Departamento de Ciências Fisiológicas,
São Luís - MA

Tonicley Alexandre da Silva
Curso de Nutrição, Departamento de Ciências Fisiológicas,
Universidade Federal do Maranhão – UFMA
São Luís - MA

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi realizar uma prospecção em documentos de patentes e trabalhos científicos sobre a utilização do mesocarpo de babaçu nas áreas de alimentos, fármacos e cosméticos como forma de subsidiar o desenvolvimento de novos produtos. Foi realizada uma avaliação retrospectiva descritiva, de caráter exploratório em base de dados de patentes (INPI, WIPO, EPO e Google Patents) e trabalhos científicos (Periódicos Capes, Google Scholar, Pubmed e Science Direct), analisando informações sobre Instituições depositantes/autoras, componentes utilizados, espécies utilizadas, data de deposito/publicação e área de aplicação/pesquisada e utilizando como termos chave em inglês "Babassu AND Mesocarp", "Babassu Mesocarp AND food", "Babassu Mesocarp AND preparation", e em português "Mesocarpo AND Babaçu". No levantamento foram selecionados 13 patentes e 45 trabalhos acadêmicos, observou-se que somente instituições brasileiras possuem patentes e trabalhos acadêmicos com o mesocarpo de babaçu, que sua forma isolada é a mais utilizada nas patentes (n=9) e trabalhos acadêmicos (n=44) sendo as espécies *Orbignya Phalerata* (patentes n=3, trabalhos acadêmicos n=24) e *Atallea Speciosa* (patentes n=3, trabalhos acadêmicos n=8) as mais utilizadas, com um crescimento nas publicações (2000-2001 n=1, 2018-2019 n=5) e depósitos (2010-2011 n=1, 2018-2019 n=5), principalmente nas áreas de Ciências Medicas Veterinária e Higiene para patentes (n=6) e Tecnologia de Alimentos/Massas e panificação (n=12) e Farmacologia/cicatrização(n=7) para os trabalhos acadêmicos. Podemos concluir que o mesocarpo de babaçu é estudado somente por instituições brasileiras, principalmente na forma isolada das espécies *Orbignya Phalerata* e *Atallea Speciosa* nas áreas de Ciências Medicas Veterinária e Higiene, Tecnologia de Alimentos e Farmacologia com crescimento das publicações/depósitos ao longo dos anos.

PALAVRAS-CHAVE: Babaçu, Mesocarpo, Prospecção, Inovação.

TECHNOLOGICAL PROSPECTING: USE OF BABAÇU MESOCARP IN THE FOOD, PHARMACEUTICAL AND COSMETIC AREAS

ABSTRACT: The objective of this work was to prospect for patent documents and scientific papers on the use of babassu mesocarp in the areas of food, drugs and cosmetics as a way to support the development of new products. An exploratory, descriptive retrospective evaluation was carried out on a database of patents (INPI, WIPO, EPO and Google Patents) and academic

works (Capes Periodicals, Google Scholar, Pubmed and Science Direct), analyzing information about depositing institutions / authors, components used, species used, date of deposit / publication and area of application / researched and using as key terms in English “Babassu AND Mesocarp”, “Babassu Mesocarp AND food”, “Babassu Mesocarp AND preparation”, and in Portuguese “Mesocarpo AND Babaçu ”. In the survey, 13 patents and 45 academic papers were selected, it was observed that only Brazilian institutions have patents and academic papers with babassu mesocarp, that their isolated form is the most used in patents (n = 9) and academic papers (n = 44) being the species Orbignya Phalerata (patents n = 3, academic papers n = 24) and Atallea Speciosa (patents n = 3, academic papers n = 8) the most used, with an increase in publications (2000-2001 n = 1 , 2018-2019 n = 5) and deposits (2010-2011 n = 1, 2018-2019 n = 5), mainly in the areas of Veterinary Medical Sciences and Hygiene for patents (n = 6) and Food Technology / Pasta and bakery (n = 12) and Pharmacology / healing (n = 7) for academic works. We can conclude that the babassu mesocarp is studied only by Brazilian institutions, mainly in the isolated form of the species Orbignya Phalerata and Atallea Speciosa in the areas of Veterinary Medical Sciences and Hygiene, Food Technology and Pharmacology with the growth of publications / deposits over the years.
KEYWORDS: Babaçu, Mesocarp, Prospecting, Innovation.

1 I INTRODUÇÃO

O babaçu é um fruto da família botânica *Arecaceae* e de nome científico “*Attalea speciosa Mart. ex. Spreng;* sinonímia *Orbignya phalerata*” (NUNES, *et al*. 2018, p. 10a). Os babaçuais (locais de ocorrência da espécie) concentram-se nas regiões Nordeste, Norte e Centro-Oeste do Brasil, contudo o Nordeste é a região de maior ocorrência desta palmeira. Essa espécie tem uma grande importância para a comunidade local, pois gera renda através da quebra do coco, amêndoas e mesocarpo. (EMBRAPA, 1984a).

Dados do IBGE no ano de 2017 sobre a quantidade e valor dos produtos da extração vegetal, mostram uma produção de 54.330 toneladas para o babaçu, gerando um valor de R$ 95.814, sendo assim, uma fonte de renda para diversas famílias nas localidades de ocorrência.

Da massa total do fruto do babaçu, aproximadamente 12,6% é epicarpo, 20,4% é o mesocarpo, 58,4% é o endocarpo e as amêndoas, 8,7%. O mesocarpo é extraído em uma das fases processamento, passando por um processo de secagem, moagem e peneiramento, gerando assim uma farinha rica em amido utilizada para a alimentação humana, ração animal e aglomerante para fabricação de briquetes. (FERREIRA, 2005 *apud* CARRAZZA; SILVA; ÁVILA, 2012).

Estes subprodutos do babaçu, entre eles o mesocarpo, podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos produtos, agregando valor a matéria prima, contudo, para o desenvolvimento de novos produtos é importante estudos voltados à pesquisa e desenvolvimento **(**DA SILVA; RUSSO, 2014). Uma das etapas iniciais da pesquisa e desenvolvimento de novos produtos são os estudos de prospecção tecnológica, que

podem ser definidos como um meio sistemático de mapear desenvolvimentos científicos e tecnológicos, capazes de influenciar de forma significativa a indústria, a economia ou a sociedade como um todo (KUPFER; TIGRE 2004).

Entendendo que o babaçu oferece um grande potencial para o desenvolvimento de produtos, o presente trabalho objetiva realizar um levantamento de informações contidas em documentos de patentes e trabalhos científicos sobre a utilização do mesocarpo de babaçu nas áreas de alimentos, fármacos e cosméticos como forma de subsidiar o desenvolvimento de novos produtos.

2 | PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

Este estudo foi desenvolvido com o intuito de promover uma avaliação retrospectiva descritiva, de caráter exploratório. Realizou-se com base e interpretação dos dados encontrados no banco nacional de patentes (INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial) e internacionais (WIPO- World Intellectual Property Organization, EPO - European Patent Office e Google Patents). Para as pesquisas de trabalhos científicos (artigos, teses, dissertações e monografias) as interpretações foram no banco nacional (Periódicos Capes) e internacionais (Google Scholar, Pubmed, Science Direct).

A coleta foi realizada através de acesso de *sites* da internet, onde estão disponíveis as bases de dados. Foram utilizadas palavras-chave que permitiram a busca das patentes depositadas com finalidade de alcançar aquelas referentes ao tema da pesquisa. O cruzamento das palavras-chaves foi realizado da mesma forma em todas as bases de dados. A busca foi realizada com a inserção das palavras-chave no campo intitulado como título e/ou resumo, de modo que foi usado os termos-chave em inglês “Babassu AND Mesocarp”, “Babassu Mesocarp AND food”, “Babassu Mesocarp AND preparation”, e em português “Mesocarpo AND Babaçu”.

A partir da leitura do título, resumo e quando insuficientes de informação o texto integral eram selecionadas as patentes, artigos, teses, dissertações e monografias relacionados ao mesocarpo de babaçu e que tinham relação com as áreas de alimentos, fármacos e cosméticos, foi dado o *stop* na pesquisa em todas as bases de dados quando se chegava a última página de resultados de pesquisa ou após 10 páginas sem resultados de importância para o presente trabalho.

Utilizou-se como critério de inclusão no estudo todas as patentes e trabalhos científicos nas áreas de alimentos, fármacos e cosméticos que utilizaram o mesocarpo de babaçu. Foram excluídas da pesquisa patentes e trabalhos acadêmicos já catalogados nos bancos de dados anteriores, como estratégia para não tabular trabalhos repetidos no banco de dados.

As informações analisadas nas patentes e trabalhos científicos foram Instituições depositantes/autoras, componentes utilizados, espécies utilizadas, data de deposito/

publicação e área de aplicação/pesquisada. Para classificação das patentes utilizou-se a Classificação Internacional de Patentes (CIP) e para classificação das áreas pesquisadas foram analisados os objetivos e área de publicação dos trabalhos acadêmicos. Todos os resultados foram tabulados e analisados no software Excel 2019.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o levantamento foram selecionados 13 patentes e 45 trabalhos acadêmicos.

A Fig. 1 mostra as instituições depositantes de patentes (Fig.1A) e as instituições autoras de trabalhos acadêmicos (Fig. 1B), a que mais depositou patentes (Fig.1A) foi a UFMA (n=5), seguido da UFPI (n=4), em relação aos trabalhos acadêmicos (Fig. 1B) novamente a UFMA (n=23) foi a instituição com maior número de publicações seguido da UFPI (n=4). Provavelmente estes resultados sejam devido à ocorrência da espécie principalmente nos estados do "Pará, Maranhão, Ceará, Piauí, Bahia, Minas Gerais, Goiás e Tocantins" (ROCHA; LOPES JUNIOR, 2016, p. 3a).

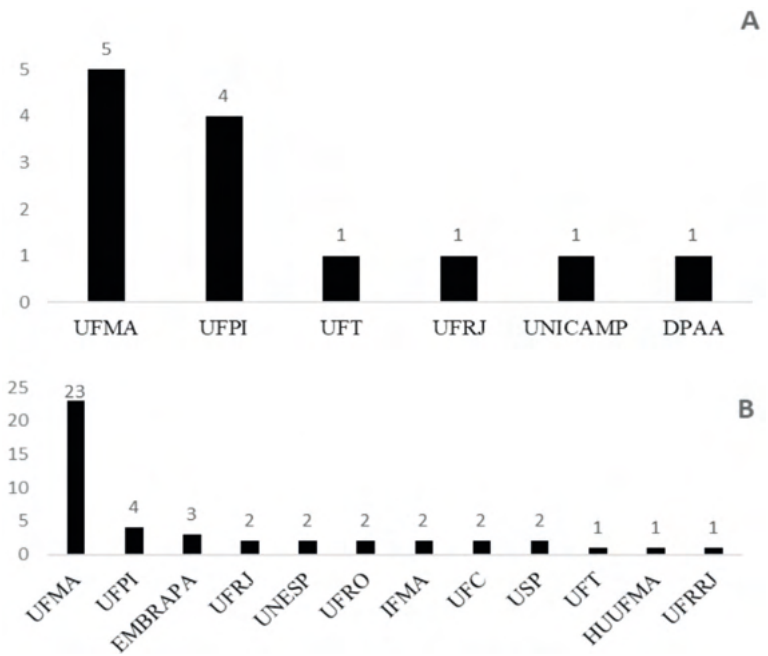


Fig 1: Instituições depositantes das patentes com mesocarpo de babaçu (A) e Instituições autoras dos trabalhos acadêmicos com mesocarpo de babaçu (B).

É possível perceber também que todas as instituições depositantes de patentes (Fig.1A) e autoras de trabalhos acadêmicos (Fig. 1B) são brasileiras, o que demonstra ainda um baixo interesse internacional pelo mesocarpo de babaçu. Pode perceber também uma baixa conversão do conhecimento gerado por meio dos trabalhos acadêmicos em

patentes, uma vez que foram publicados 45 trabalhos acadêmicos e somente 13 patentes, demonstrando que muito do que é pesquisado por essas instituições não é convertido em produtos por meio de patentes, estes resultados corroboram com os achados de (CHAVES; ALBUQUERQUE, 2006) que demonstra a existência de uma “desconexão” entre as produções científica e tecnológica.

A Fig. 2 mostra os componentes naturais do babaçu utilizados nas patentes (Fig. 2A) e componentes naturais utilizados nos trabalhos acadêmicos (Fig. 2B). Sobre os componentes naturais utilizados nas patentes (Fig. 2A) foi possível observar que houve uma maior combinação do mesocarpo de babaçu com outros componentes quando comparado aos trabalhos acadêmicos.

Este dado pode ser explicado pelo fato de componentes naturais ou isolados de produtos naturais não serem patenteáveis no Brasil (BRASIL, 2015), desta forma estimulam a combinação do mesocarpo com outros componentes nas patentes para atender as exigências da legislação.

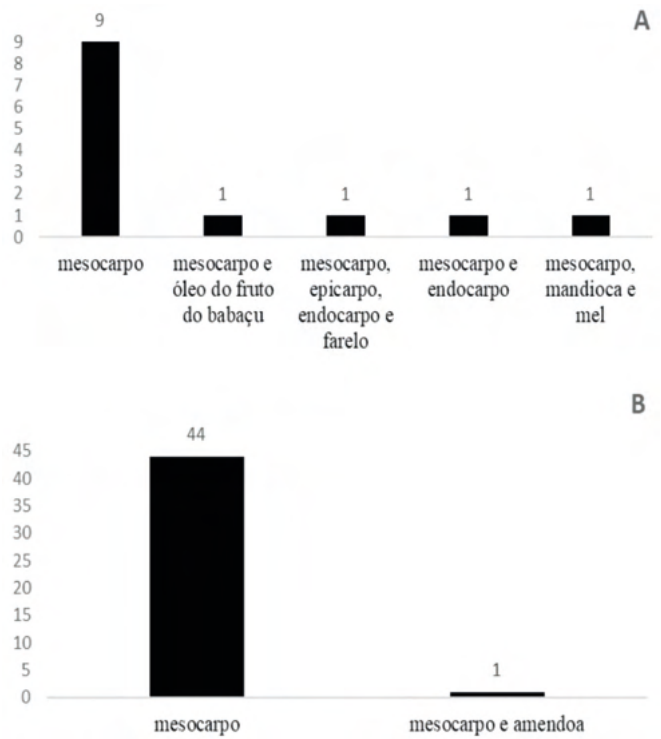


Fig 2: Componentes naturais utilizados nas patentes com mesocarpo de babaçu (A) e componentes naturais utilizados nos trabalhos acadêmicos com mesocarpo de babaçu (B).

Fonte: Autoria Própria, (2020).

Quanto as espécies utilizadas nas patentes (Fig. 3A) e as espécies utilizadas

nos trabalhos acadêmicos (Fig. 3B), foi possível verificar que as mais prevalentes nas patentes (Fig. 3A) foram a *Orbignya Phalerata* (n=3), *Orbignya Speciosa* (n=3) e *Atallea Speciosa* (n=3) e nos trabalhos acadêmicos (Fig. 3B), foram *Orbignya Phalerata* (n=24), *Atallea Speciosa* (n=8), *Orbignya Sp.* (n=7). Estes resultados corroboram aos observados na (Fig.1A) no qual as espécies *Orbignya Phalerata* e *Atallea Speciosa* foram as mais encontradas nos estados do Maranhão e Piauí os mesmos que possuem as instituições com maior número de publicações com o mesocarpo de babaçu. (ROCHA; LOPES JUNIOR, 2016, p. 3b).

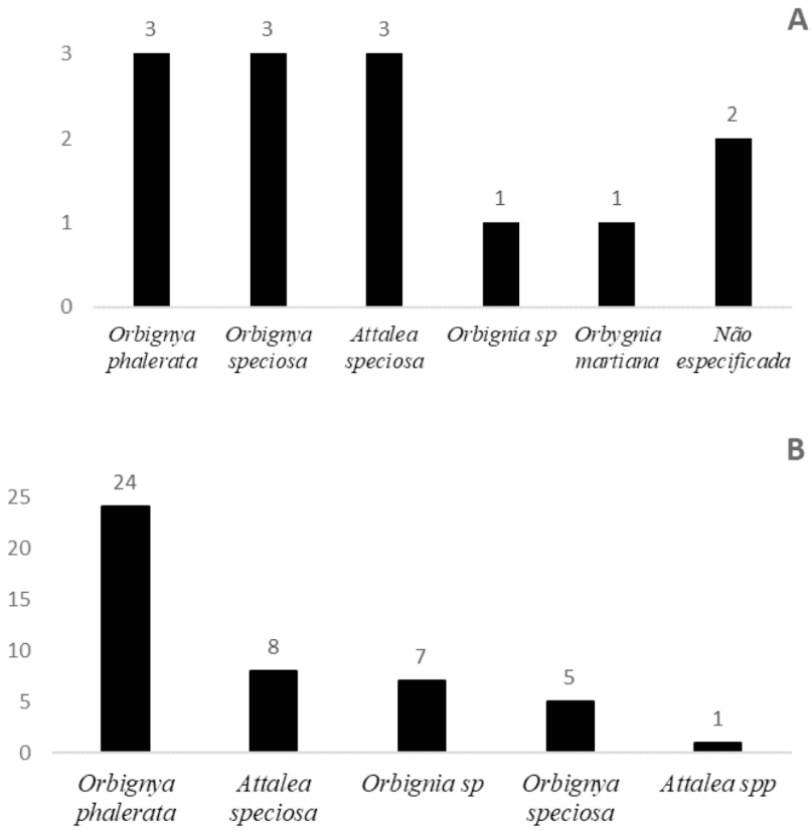


Fig. 3: Espécie utilizadas nas patentes com mesocarpo de babaçu (A) e espécies utilizadas nos trabalhos acadêmicos com mesocarpo de babaçu (B).

Fonte: Autoria Própria, (2020).

Com relação a data de depósito das patentes (Fig. 4A) e data de publicação dos trabalhos acadêmicos (Fig. 4B), pode-se perceber que as primeiras patentes datam do biênio 2010-2011 somente 10 anos após a publicação dos primeiros trabalhos acadêmicos no biênio 2000-2001. Este fato pode ser explicado pelo processo tardio da cultura de

deposito de patentes por parte das instituições públicas de pesquisa brasileiras, sendo elas as principais responsáveis pelo deposito de patentes com o mesocarpo de babaçu com destaque a UFMA e UFPI (Fig. 1A), as quais só tiveram seus primeiros depósitos após 2010. (OLIVEIRA; NUNES, 2013).

Analisando os depósitos de patentes observamos que entre os anos de 2010 a 2014 houve uma redução no depósito de patentes (Fig. 4A), seguido de um crescimento entre os anos de 2016 a 2017 (n=5), com manutenção desde número entre 2017 a 2019.

Em relação a data de publicação dos trabalhos acadêmicos (Fig. 4B), é possível perceber que um crescimento ao longo dos anos com picos de publicações nos biênios 2006-2007(n=8) e 2016-2017(n=14). Este último pico de publicações de trabalhos acadêmicos no biênio 2016-2017(Fig. 4B) corrobora ao biênio de retorno no crescimento de deposito de patentes 2016-2017(Fig. 4A), evidenciando a relação entre as publicações acadêmicas e depósitos de patentes e novamente demonstrando que somente a partir da década de 2010-2019 que as instituições que pesquisam o mesocarpo iniciaram a cultura de deposito de patentes.

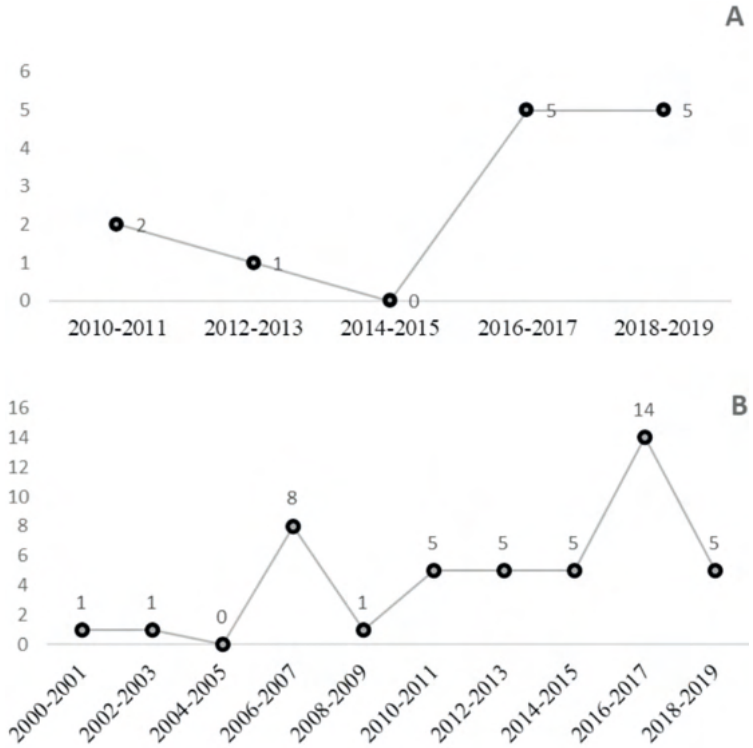


Fig. 4: Data de depósito das patentes com mesocarpo de babaçu (A) e data de publicação dos trabalhos acadêmicos com mesocarpo de babaçu(B).

Fonte: Autoria Própria, (2020).

Na (Fig. 5A) podemos observar que a aplicação dos produtos desenvolvidos se concentra principalmente nas áreas de Ciência médica ou veterinária e higiene (n=6), Alimentos ou produtos alimentícios (n=3) e Cozedura ao forno (n=2), as demais aplicações estavam presentes em apenas 1 patente. Neste gráfico podemos observar que há um número maior de aplicações do que o número de patentes, este fato justifica-se por algumas patentes apresentarem mais de uma área de aplicação.

Quando observamos as áreas mais pesquisadas nos trabalhos (Fig.5B) observamos que os trabalhos se concentram em Tecnologia de Alimentos e Farmacologia. Na Tecnologia de Alimentos, as áreas mais pesquisadas são Massas e panificação (n=12), Bromatologia (n=4) e Lácteos (n=2). Possivelmente a grande quantidade de trabalhos com o mesocarpo na área de Massas e Panificação deve-se ao fato do mesmo ser classificado como um farináceo, ou seja, um “pó desidratado rico em amido usado na alimentação” (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2015, p. 43), facilitando assim o seu uso neste tipo de produtos.

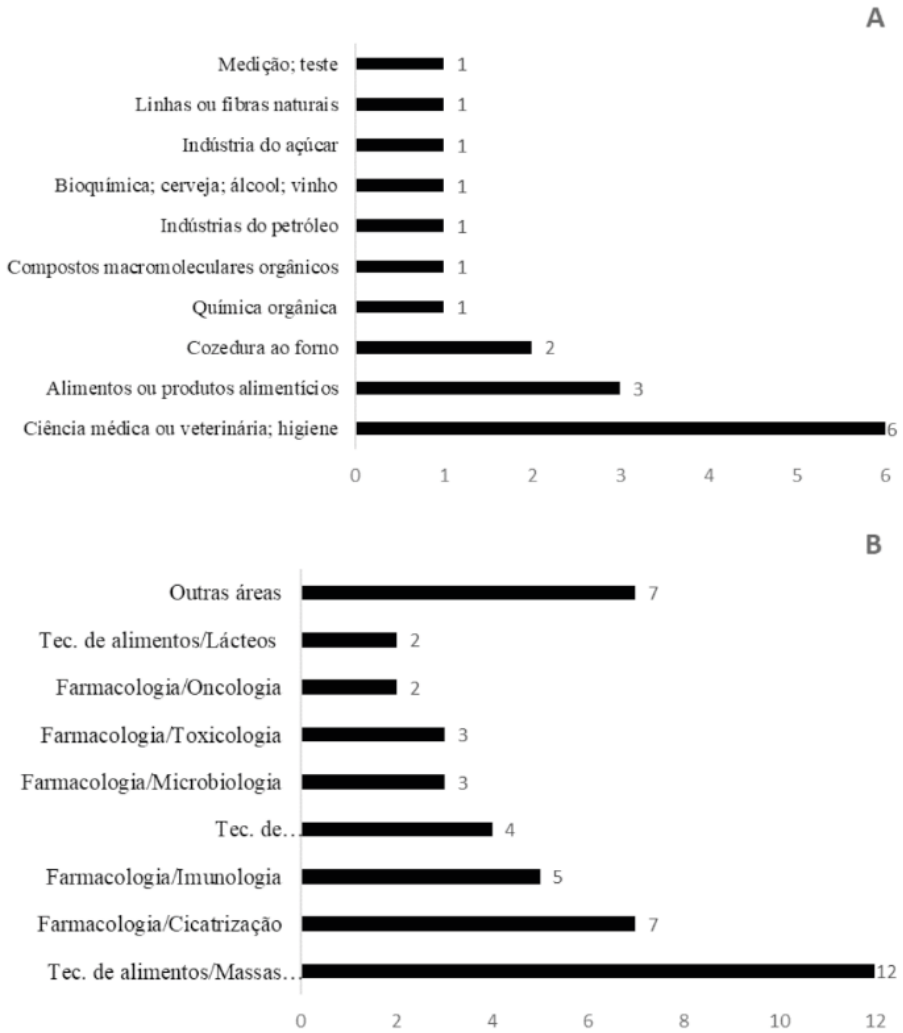


Fig. 5: Áreas de aplicação das patentes com mesocarpo de babaçu (A) e áreas pesquisadas nos trabalhos acadêmicos com mesocarpo de babaçu (B).

Fonte: Autoria Própria, 2020.

Na área de Farmacologia o destaque foram as áreas de Cicatrização (n=7), Imunologia (n=5), Microbiologia (n=3), Toxicologia (n=3) e Oncologia (n=2). Esta ampla diversidade de pesquisas farmacológicas com o mesocarpo pode indicar um possível uso futuro do mesocarpo na composição de produtos nutracêuticos, caso comprovado seu efeito. O nutracêutico é um termo híbrido criado pela *Foundation for Innovation in Medicine* dos Estados Unidos, em 1989/1990 e representa “Uma substância que pode ser um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios medicinais, incluindo prevenção ou tratamento de doenças”. (ESPÍN & et al., 2007).

Estes resultados apresentam uma certa correspondência entre os produtos desenvolvidos e as áreas mais pesquisadas, uma vez que as áreas mais pesquisadas (Tecnologia de Alimentos e Farmacologia) integram os produtos classificados nas patentes em Ciência médica ou veterinária e higiene, Alimentos ou produtos alimentícios e Cozedura ao forno.

Levando em consideração a Fig 4 sobre a cronologia das patentes e trabalhos científicos, que as primeiras patentes com mesocarpo surgiram somente 10 anos após o início dos trabalhos com mesocarpo, podemos supor que as áreas de aplicação das patentes sofreram influência das áreas pesquisadas nos trabalhos acadêmicos, soma-se este fato os dados observados na Fig. 1 que somente instituições brasileiras pesquisaram e patentearam produtos com o mesocarpo e que o processo de deposito de patentes por essas instituições iniciaram também tardiamente.

4 I CONCLUSÃO

O mesocarpo de babaçu vem sendo estudado e explorado tecnologicamente somente por instituições brasileiras, o mesocarpo isolado das espécies *Orbignya Phalerata* e *Atallea Speciosa* foi o mais utilizado nas patentes e trabalhos acadêmicos principalmente nas áreas de Ciências Medicas Veterinária e Higiene com destaque a Tecnologia de Alimentos e Farmacologia com acentuado crescimento das publicações/depósitos ao longo dos anos, a partir do biênio 2000-2001 para os trabalhos acadêmicos e do biênio 2010-2011 para as patentes.

Este trabalho apresenta um cenário sobre a utilização do mesocarpo de babaçu em patentes e trabalhos acadêmicos contribuindo assim direcionar futuras pesquisas e desenvolvimento de produtos com o mesocarpo.

REFERÊNCIAS

ADITIVOS & INGREDIENTES. **Farinhas.** São Paulo: Editora Insumos, 2015. Disponível em: < http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/98.pdf>. Acesso em: Fev. 2020.

BRASIL, INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. **Diretrizes de Exame de Pedidos de Patente na Área de Biotecnologia.** Brasília: MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR, 2015. Disponível em: <http://www.inpi.gov.br/sobre/arquivos/resolucao_144-2015_-_diretrizes_biotecnologia.pdf>. Acesso em: Fev. 2020.

CHAVES, Catari Vilela; ALBUQUERQUE, Eduardo da Motta. Desconexão no sistema de inovação no setor saúde: uma avaliação preliminar do caso brasileiro a partir de estatísticas de patentes e artigos. ***Economia Aplicada***, 2006, 10.4: 523-539.

CARRAZZA, Luis Roberto; SILVA, Mariane Lima da; ÁVILA, João Carlos Cruz. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Babaçu**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

DA SILVA, Gabriel Francisco; RUSSO, Suzana Leitão. org . **Capacite:** os caminhos para a inovação tecnológica. São Cristóvão: Editora UFS, 2014. 182p.

ESPÍN, J.C.; GARCÍA-CONESA, M. T. & BARBERÁN, F.A.T. Nutraceuticals: Facts and fiction. **Phytochemistry**. 2007 (68): 2986 – 3008.

EMBRAPA. **Babaçu: Programa Nacional de Pesquisa**. Departamento de Orientação e Apoio à Programação de Pesquisa, Brasília, Brasilia. EMBRAPA-DDT, 1984.

IBGE. **Pevs 2017**: produção da silvicultura e da extração vegetal chega a R$ 19,1 bilhões e cresce 3,4% em relação a 2016. Agência IBGE Notícias, 2018. Disponível em: < https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/22620-pevs-2017-producao-da-silvicultura-e-da-extracao-vegetal-chega-a-r-19-1-bilhoes-e-cresce-3-4-em-relacao-a-2016>. Acesso em: Fev. 2020.

KUPFER, David; TIGRE, Paulo Bastos. Modelo SENAI de prospecção: documento metodológico. Capítulo 2: prospecção tecnológica. **Organizacion Internacional Del Trabajo CINTERFOR Papeles de La Oficina Técnica**, n. 14, 2004.

NUNES, Guilhermina Maria Vieira Cayres; *et al*. **VI BABAÇUTEC:** Negócios Tecnológicos, Políticas Públicas e Valorização das Quebradeiras de Coco Babaçu Palestras. São Luís: Embrapa Cocais, 2018. p. 1-38.

OLIVEIRA, LG de; NUNES, J. da S. Patentes Universitárias no Brasil: a proteção do conhecimento gerado nas Universidades no período entre 1990 e 2010. In: ***Congresso Latino-Ibericoamericano de Gestão de Tecnologia***. 2013. p. 3073-3086.

ROCHA, Yago Cesar do Nascimento; LOPES JUNIOR, Robert de Medeiros. POTENCIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA CADEIRA PRODUTIVA DO BABAÇU – UMA REVISÃO LITERÁRIA. In: XXXVI ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUCÃO, 2016, João Pessoa. **Anais**... João Pessoa: Enegep, 2016. p . 1-10.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FARINHA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA EM MACEIÓ – AL

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 08/10/2021

Genildo Cavalcante Ferreira Júnior
Instituto Federal do Acre – Campus Xapuri
Xapuri – Acre
http://lattes.cnpq.br/7845243763840344

Heitor Barbosa Gomes de Messias
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas
http://lattes.cnpq.br/3572553003745247

Eduarda Mendes de Almeida
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas
http://lattes.cnpq.br/2746757166602485

Lucas Pedrosa Souto Maior
UDE Laboratorial
Maceió – Alagoas
http://lattes.cnpq.br/3556800229897383

Eliane Costa Souza
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas
http://lattes.cnpq.br/8850337692948178

Thiago José Matos Rocha
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas
http://lattes.cnpq.br/9228726128290600

Jammily de Oliveira Vieira Moreira
Universidade Federal da Bahia – Campus Ondina
Salvador – Bahia
http://lattes.cnpq.br/0077298297815892

RESUMO: A produção de farinha de mandioca faz parte da história do Brasil, em algumas regiões, a fabricação desse produto ocorre em pequenos estabelecimentos de forma irregular, apresentando problemas de adequação a legislação e condições higiênico-sanitárias inadequadas. Porém, com o aumento das exigências dos consumidores e da fiscalização, o produto está ganhando mais espaço nas indústrias e abandonando o seu processo artesanal. Objetivou-se neste trabalho, avaliar a qualidade microbiológica de farinha de mandioca produzidas e comercializadas no estado de Alagoas. Foram coletadas 10 amostras de farinha de mandioca, em supermercados do município de Maceió – AL, e em seguida, foram analisadas quanto à presença de coliformes totais, coliformes fecais (Coliformes a 45°C), *Salmonella* sp. e *Bacillus cereus*. De acordo com a Resolução RDC nº 12 de 02.01.2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), todas as amostras avaliadas, apresentaram-se dentro dos limites aceitáveis para coliformes fecais e *Salmonella* sp., porém 70% das amostras apresentaram contagem de *Bacillus cereus* acima dos valores permitidos (3 x 10^3 UFC/g). Apesar do processo térmico, pelo qual a farinha é submetida, a resistência dos esporos de *B. cereus* ao tratamento térmico, bem como condições higiênico-sanitárias inadequadas, pode explicar a alta contagem de *B. cereus* durante o processamento.

PALAVRAS-CHAVE: Coliformes. *Salmonela* sp.. *Bacillus cereus*.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CASSAVA FLOUR MARKETED IN MACEIÓ - AL

ABSTRACT: The production of cassava flour is part of the history of Brazil, in some regions, the manufacture of this product occurs in small establishments of irregular shape, presenting problems of adaptation to legislation and inadequate hygienic-sanitary conditions. However, with increasing consumer demands and enforcement, the product is gaining more space in the industries and abandoning its artisanal process. The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of cassava flour produced and marketed in the State of Alagoas. Ten samples of cassava flour were collected in supermarkets in the city of Maceió - AL, and then analyzed for the presence of total coliforms, fecal coliforms (Coliforms at 45°C), *Salmonella* sp. and *Bacillus cereus*. According to Resolution RDC Nº. 12 of January 2, 2001 of the National Health Surveillance Agency (ANVISA), all the samples evaluated were within acceptable limits for coliforms at 45 °C and *Salmonella* sp., but 70% of the samples had a *Bacillus cereus* above the allowable values (3 x 10^3 UFC/g). Despite the thermal process, by which the flour is subjected, the resistance of *B. cereus* spores to heat treatment, as well as inadequate hygienic-sanitary conditions, may explain the high count of *B. cereus* during processing.
KEYWORDS: Coliforms. *Salmonella* sp.. *Bacillus cereus.*

INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), faz parte da história no Brasil, apresentando uma relevante importância socioeconômica no Brasil, sendo uma das bases alimentícias da população brasileira, seja na forma de farinha, ou no consumo *in natura* (PEREIRA; PEREIRA, 2015).

No Brasil, em 2015 a produção de raízes tuberosas passou dos 22 milhões de toneladas, correspondendo 2,11 milhões de hectares (ha) de área plantada no país (SOARES et al., 2017). De acordo com os indicadores de produção agrícola do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), no ano de 2016, a produção de mandioca no Brasil, foi superior a 23 milhões de toneladas, caindo para aproximadamente 21 milhões em 2017. O total de área plantada, também diminui, passando de 1,5 milhões de hectares em 2016, para 1,4 milhões em 2017. Esses dados demonstram uma queda no cultivo da mandioca no Brasil, que vem se acentuada a cada ano. Por muitos anos o Brasil foi o maior produtor de mandioca, mas, atualmente se encontra em quarto lugar no ranking mundial, com 7,7% da produção (AZEVEDO, 2015).

A elevada concentração de carboidratos nas raízes e derivados da mandioca a torna uma excelente fonte de energia, adquirindo uma importância nutricional na alimentação humana. Seu aproveitamento depende do teor de compostos cianogênicos presente nas raízes, que são potencialmente tóxicos para humanos e animais. A partir do teor desses compostos, as raízes de mandioca são classificadas em mansa e brava. A mandioca mansa, também denominada como macaxeira ou aipim, são consumidas cozidas ou fritas pela

população, devido à baixa concentração de compostos cianogênicos. Quando a mandioca apresenta alta concentração de compostos cianogênicos, são classificadas como mandioca brava, sendo destinada ao processamento industrial, principalmente na forma de farinha e fécula (BRANDÃO, 2007). Portanto, a farinha é obtida pela ligeira torração da raladura das raízes de mandioca previamente descascadas, lavadas e isentas do radical cianeto (DIAS; LEONEL, 2006).

A mandioca está disseminada em praticamente todos os estados brasileiros, mobilizando famílias inteiras na produção de farinha, representando um tipo de atividade familiar de subsistência. Por conta disso, a produção de farinha de mandioca, ocorre muita das vezes, em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, agravada pela falta de capacitação dos manipuladores e ausência de serviço de assistência técnica, que comprometem a qualidade final do produto, depreciando seu valor (santos, 2017).

Embora a produção artesanal da farinha de mandioca represente uma preocupação do ponto de vista da saúde pública, observa-se atualmente, que a farinha de mandioca artesanal vem ganhando destaque para um público específico, que optam por produtos naturais (ÁLVARES et al., 2015).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em sua Resolução - RDC nº12/2001, determina como parâmetros de qualidade microbiológica para amido, farinha, féculas e fubá, a pesquisa de *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* e coliformes a 45ºC, sendo exigido a ausente de *Salmonella* sp/25 gramas do produto, e um limite máximo de 3 x 10^3 UFC/g de *B. cereus* e 10^2 NMP/g de coliformes a 45ºC (BRASIL, 2001).

Em Alagoas, a produção está presente em todas as microrregiões, no entanto, a maior concentração ocorre na região agreste do estado, em particular, no município de Arapiraca. Nos locais onde predomina as áreas plantadas da cultura, a raiz da mandioca é transformada em farinha ou é comercializada para fora do estado. Há uma comercialização, em menor escala, da massa e da goma da mandioca (fécula), utilizada para o preparo de bolos, tapiocas e outros produtos. A produção de raízes ocorre em pequenas plantações, com métodos tradicionais com pouca utilização de insumos e equipamentos (SAMPAIO et al., 2003).

Considerando a importância socioeconômica dos derivados de mandioca no estado de Alagoas, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade microbiológica de farinhas de mandioca comercializadas no município de Maceió - AL.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 10 amostras de farinha de mandioca de diferentes marcas, comercializadas em hipermercados da cidade de Maceió – AL. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa Científica, localizado no *Campus I* - Prof. Eduardo Almeida, do Centro Universitário Cesmac, para realização das

análises microbiológicas.

As análises microbiológicas foram realizadas conforme preconizado pela *American Public Health Association* (APHA, 2004). De cada amostra foram retiradas 25 g e diluídas em 225 mL de água peptonada estéril, obtendo assim, uma diluição inicial de 10^{-1} e a partir desta, foram preparadas diluições decimais 10^{-2} e 10^{-3}.

Para pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais (coliformes a 45ºC), foi realizado inicialmente a etapa presuntiva. De cada diluição, foi transferido 1 mL da amostra, para uma série de três tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo *Lauril Sulfato Triptose* (LST) com tubo de Durhan invertido, sendo incubados em seguida, na temperatura de 35°C ± 0,5ºC/24-48h ± 2h. Após esse período, os tubos de LST que apresentaram turvação do meio de cultura com produção de gás no interior dos tubos de Durhan, foram considerados positivos. A etapa confirmativa para a presença de coliformes totais e a 45ºC, foi realizada com a transferência de alíquotas da amostra dos tubos positivos de LST para tubos contendo caldo verde brilhante (confirmativo para coliformes totais) e caldo *Escherichia coli* – EC (confirmativo para coliformes a 45ºC), sendo incubados respectivamente, a uma temperatura de 35°C ± 0,5ºC/24-48h ± 2h e a 45,5ºC ± 0,2°C/24-48h ± 2h. Os tubos que apresentaram turvação do caldo e produção de gás dentro do tubo de Durhan, foram considerados positivos, e o resultado foi expresso em Número Mais Provável (NMP/g).

A pesquisa de *Salmonella* sp., foi realizada com o pré-enriquecimento de 25 g da amostra em 225 mL de caldo lactosado, incubado a 35-37ºC durante 18-24h. Após esse período, uma alíquota de 1mL foi transferida para um tubo contendo caldo selenito-cistina (SC) e outra alíquota de 0,1 mL, foi transferida para um tubo com caldo Rappaport-Vassiliadis (RAP). Os tubos foram incubados a 37ºC ± 1ºC (SC) e 41,5°C ± 1ºC (RAP) durante 24h ± 3h. A partir desses tubos, alíquotas foram transferidas com o auxílio de alça de platina, para placas de Petri com ágar Entérico de Hektoen (HE) e ágar *Xilose Lisina Desoxicolate* (XLD). As placas foram incubadas por 24h a 37ºC ± 1ºC. As colônias típicas obtidas nas placas foram submetidas a provas bioquímicas, para confirmação de *Salmonella* sp.

O *Bacillus cereus*, foi analisado pelo plaqueamento por superfície de uma alíquota de 0,1mL, de cada diluição preparada inicialmente (diluições 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}), em meio Agar Manitol-Gema de Ovo-Polimixina (MYP-A). Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, as alíquotas de 0,1mL foram espalhadas sobre o meio MYP-A. As placas foram incubadas a 30°C/24-48h para a contagem das colônias típicas (colônias esféricas, com bordas perfeitas, planas, secas e cerosas, rodeadas por um grande halo róseo de precipitação). Cinco colônias típicas de *B. cereus* foram submetidas às provas bioquímicas (utilização anaeróbia da glicose, decomposição de tirosina, redução de nitrato, teste de resistência à lisozima e reação de *Voges-Proskauer*) e coloração de Gram, para a confirmação de *B. cereus*.

Todos os resultados obtidos foram comparados com os limites estabelecidos na

Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2011), quando aplicáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar os resultados das amostras analisadas, observa-se que todas as amostras estavam dentro dos padrões exigidos pela Resolução - RDC nº12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2011), no que diz respeito aos limites preconizados para coliformes a 45°C e *Salmonella* sp. (Tabela 1). Verificou-se que entre as amostras analisadas, somente uma (A3) apresentou contaminação detectável pelo método utilizado, para coliformes totais, cujo o valor foi de 240 NMP/g (2,4 x 10^2 NMP/g), para esses microrganismos. A mesma amostra também apresentou uma pequena contagem para coliformes a 45°C (21 NMP/g), porém, dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente.

Amostras	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes a 45°C (NMP/g)	*Salmonella* sp. (em 25g)	*Bacillus cereus* (UFC/g)
A1	<3,0	<3,0	Nd	4 x 10^3
A2	<3,0	<3,0	Nd	2 x 10^3
A3	2,4 x 10^2	2,1 x 10^1	Nd	3 x 10^3
A4	<3,0	<3,0	Nd	4 x 10^3
A5	<3,0	<3,0	Nd	1,25 x 10^4
A6	<3,0	<3,0	Nd	4 x 10^2
A7	<3,0	<3,0	Nd	1,22 x 10^4
A8	<3,0	<3,0	Nd	5,9 x 10^4
A9	<3,0	<3,0	Nd	1,04 x 10^5
A10	<3,0	<3,0	Nd	6,5 x 10^4
Limites permitidos*	-	10^2	Ausência	3 x 10^3

TABELA 1- Resultados das análises de coliformes totais, coliformes a 45°C, *Salmonella* sp. e *Bacillus cereus*, em amostras de farinha de mandioca produzidas e comercializadas no estado de Alagoas.

UFC/g: Unidade Formadora de Colônia a cada grama do alimento; NMP/g: Número Mais Provável a cada grama do alimento; Nd: Não detectado; *Limites permitidos: Resolução - RDC nº12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2011).

Quando se observa a contagem para *Bacillus cereus*, nota-se que 70,0% das amostras analisadas apresentaram uma contagem desse microrganismo, acima dos valores permitidos pela legislação (3 x 10^3 UFC/g). Entre essas amostras, destaca-se a amostra A9 que apresentou uma contagem de 1,04 x 10^5 UFC/g de *B. cereus* (Tabela 1). As amostras que estavam dentro dos limites aceitáveis pela legislação vigente, foram as amostras A2, A3 e A6, apresentaram uma contagem para *B. cereus* abaixo de 3 x 10^3 UFC/g.

Souza et al. (2015) ao analisar 25 amostras de farinha de mandioca de diversas regiões do sudoeste da Bahia, observaram valores de *B. cereus* abaixo das quantidades encontrados neste trabalho, variando de 20 a 1,8 x 10^3 UFC/g. Já os resultados para coliformes totais, a 45ºC e *Salmonella* sp., foram semelhantes aos resultados encontrados nas amostras analisadas neste trabalho.

Ao pesquisar coliformes totais e a 45ºC em 09 amostras de farinha de mandioca no estado do Acre, Jesus et al. (2018), também observaram resultados que corroboram com os verificados neste trabalho, observando valores abaixo de 3,0 NMP/g, para coliformes totais e Coliformes a 45°C. O mesmo se observou no trabalho de Dósea et al. (2010), onde os resultados para coliformes a 45°C e *Salmonella* sp., foram semelhantes aos resultados encontrados neste trabalho. No entanto, a contagem de *Bacillus cereus* observada por Dósea et al. (2010), foi menor que 1 x 10^1 UFC/g, nas 10 amostras analisadas pelos autores, sendo, portanto, menor que os valores observados neste trabalho.

Os resultados para coliformes totais, coliformes a 45ºC e *Salmonella* sp., observados neste trabalho, sugerem boas condições higiênico-sanitária de processamento durante a fabricação das amostras de farinha de mandioca analisadas, embora tenha se observado valores elevados de *Bacillus cereus.*

A legislação brasileira determina a pesquisa de coliformes totais na farinha de mandioca, no entanto, esses microrganismos são indicadores de qualidade microbiológica dos alimentos e bebidas. Alta contagem desses microrganismos nos alimentos, indicam condições higiênico-sanitárias inadequadas de processamento, como falta de higiene, má manipulação e armazenagem inadequada dos produtos. A presença de coliformes totais, também sugere a existência de microrganismos patogênicos no alimento, capazes de provocar infecções ou intoxicações no homem. Já a *Salmonella* sp. é um patógeno que apresenta altos índices de contaminação e pode causar febre tifoide, septicemia, gastroenterite e alguns casos podem levar até a morte (GOMES et al., 2017).

O gênero *Bacillus* compreende o maior grupo de bactérias formadoras de esporos e tem se tornado um dos grupos mais estudados devido sua ação deteriorante nos alimentos (KUMARI; SARKAR, 2016). Além de se destacar como agentes deteriorantes, a espécie *B. cereus* atua como um agente patogênico (VIDAL et al., 2016). Aliado a capacidade de produzir esporos, esses microrganismos produzem enzimas deteriorantes lipolíticas e proteolíticas, capazes de causar problemas tecnológicos nos produtos alimentícios (PINTO et al., 2017).

Embora tenha se observado níveis elevados de *B. cereus* nas amostras analisadas, o monitoramento desses microrganismos nos alimentos, deve ser realizado mesmo se população de *B. cereus* for baixa, principalmente em produtos que sofreram tratamento térmico. Através da esporulação, tais bactérias podem resistir a temperatura elevada, diferentemente de outros microrganismos patogênicos (VIDAL et al., 2016). Frequentemente o *B. cereus* também está associado a doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (LÓPEZ

et al., 2015; ZHOU et al., 2015; EL-ZAMKAN; MUBARAK, 2017).

CONCLUSÃO

Apesar da ausência de *Salmonella* sp., e da baixa quantidade de coliformes totais e Coliformes a 45°C (coliformes fecais), a elevada contagem de *Bacillus cereus* em 70,0% das amostras analisadas, torna-se preocupante, visto que esses microrganismos são responsáveis por toxinfecções alimentares. Portanto, faz-se necessário uma maior fiscalização dos órgãos competentes, na produção e comercialização da farinha de mandioca do estado de Alagoas.

REFERÊNCIAS

ÁLVARES, V. S.; SILVA, R. S.; CUNHA, C. R.; FELISBERTO, F. A. V.; CAMPOS FILHO, M. D. Efeito de diferentes concentrações de corante natural de açafrão-da-terra na composição da farinha de mandioca artesanal. **Revista Caatinga**, 28(1):256-262, jan/mar, 2015.

APHA. **Standard methods for the microbiological examination of dairy products**. Washington, D.C: American Public Health Association; 2004.

AZEVEDO C. **Perspectivas da mandioca. Curitiba: Fundação da Agricultura do Estado do Paraná (FAEP)**, 2015. Disponível em: http://sistemafaep.org.br/perspectivas-da-mandioca/. Acesso em: 01 de outubro de 2021.

BRANDÃO, T. B. C. **Caracterização da qualidade da farinha de mandioca no agreste alagoano**. Maceió (AL). 2007. 89f. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição, 2007.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (Brasil). **Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União 10 jan., 2001.

DIAS, L. T.; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Rev. Ciência e Agrotecnologia**, 30(4):692-700, Jul/ago., 2006.

DÓSEA, R. R.; MARCELLINI, P. S.; SANTOS, A. A.; RAMOS, A. L. D.; LIMA, A. S. Qualidade microbiológica na obtenção de farinha e fécula de mandioca em unidades tradicionais e modelo. **Ciência Rural**, 40(2):441-446, fev., 2010.

EL-ZAMKAN, M. A.; MUBARAK, A. G. Detection of *B. cereus* and some of Its virulence genes in some dairy desserts and children diarrhea. **Alexandria Journal for Veterinary Sciences**, 53:28-38, apr., 2017.

GOMES, A. F. A.; ALMEIDA, E. E. S.; SOUZA, S. A.; SILVA, J. P.; AMÂNCIO, T. A.; SANTOS, C. C.; BARBOSA, R. P.; OLIVEIRA, F. S.; FARIAS, P. K. S. Avaliação microbiológica de carnes moídas bovinas em diferentes estabelecimentos comerciais. **Cad. Ciênc. Agra**.,9(3):95-100, 2017.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores IBGE – Estatística de produção agrícola**, 2017. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo_Indicadores_IBGE/2017/estProdAgr_201701.pdf>. Acesso em: 10 de setembro de 2021.

JESUS, A. C.; GOMES, C. R.; MORAIS, A. A.; MORAES, M. H. S.; SILVA, F. V. A.; MADEIRA, F. P.; BERNARDE, P. S.; MENEGUETTI, D. U. O.; SOUZA, R. M. Microbiological quality of cassava flours (*Manihot esculenta* Crantz), marketed in free-trade fair in the city of Cruzeiro do Sul/Acre/Brazil. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, 5(1):59-67, 2018.

KUMARI, S.; SARKAR, P. K. Bacillus cereus hazard and control in industrial dairy processing environment. **Food Control**., 69:20-29, Apr., 2016.

LÓPEZ, A. C.; MINNAARD, J.; PÉREZ, P. F.; ALIPPI, A. M. A case of intoxication due to a highly cytotoxic Bacillus cereus strain isolated from cooked chicken. **Food microbiology**., 46:195-199, apr., 2015.

PEREIRA, I. S.; PEREIRA, M. T. Caracterização do mercado consumidor de mandioca de mesa in natura em Conceição do Araguaia (Pará). **Enciclopédia Biosfera.** 11(21):2410, mai., 2015.

PINTO, C. L. O.; SOUZA, L. V.; MELONI, V. A. S.; BATISTA, C. S.; SILVA, R.; MARTINS, E. M. F.; CRUZ, A. G.; MARTINS, M. L. Microbiological quality of Brazilian UHT milk: Identification and spoilage potential of spore-forming bacteria. International **Journal of Dairy Technology**. 70(1):20-26, feb., 2017.

SAMPAIO, Y.; COSTA, E. F.; SAMPAIO, L. M. B.; SANTIAGO, A. D. **Eficiência econômica da cadeia produtiva da mandioca em Alagoas**. Maceió: SEBRAE-AL; 2003.

SANTOS, T G. **Condições higienicossanitárias de casas de farinha do Município de campo do Brito/SE**. 2017, 50p. Monografia - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Sergipe IFS – Campus São Cristóvão, São Cristóvão – SE, 2017.

SOARES, M. R. S.; NASCIMENTO, R. M.; VIANA, A. E. S.; CARDOSO, A. D.; MAGALHÃES, G. C.; FOGAÇA, J. J. L. Componentes agronômicos qualitativos e caracterização morfológica de variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em seis épocas de colheita. **Scientia Plena**, 13(6):1-12, jun., 2017.

SOUZA, J. R.; FIGUEIREDO, R. M.; SANTANA, C. M. P. Qualidade microbiológica da farinha de mandioca comercializada na região sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 17(2):117-123, 2015.

VIDAL, A. M. C.; ROSSI-JUNIOR, O. D.; ABREU, I. L.; BÜRGER, K. P.; CARDOSO, M. V.; GONÇALVES, A. C. S.; ROSSI, G. A. M.; D'ABREU, L. F. Detection of Bacillus cereus isolated during ultra high temperature milk production flowchart through random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. **Ciência Rural**, 46(2):286-292, feb., 2016.

ZHOU, J.; PENG, Z.; LONG, J.; SOSSO, D.; LIU, B.; EOM, J. S.; WHITE, F. F. Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. **The Plant Journal**, 82(4):632-643, may, 2015

CAPÍTULO 6

DIFERENTES POTENCIALIDADES E USOS DO ÓLEO DE MACAÚBA : UMA BREVE REVISÃO

Data de aceite: 01/11/2021

Thaynara Cavalcanti Lima
Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental

Cristhiane Maria Bazílio de Omena Messias
Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental para o Semiárido

Marianne Louise Marinho Mendes
Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental para o Semiárido

RESUMO: A *Acrocomia aculeata* é uma palmeira de vasta distribuição territorial, típica de florestas tropicais, com potencial de aproveitamento integral de suas partes, sendo bastante utilizada na indústria de biocombustíveis, farmacologia e de alimentos. Desse modo, o objetivo desse estudo contempla apresentar uma revisão bibliométrica acerca das diferentes potencialidades e usos do óleo de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. e suas contribuições para o mercado de biocombustíveis, farmacologia e indústria alimentícia. Trata-se de um estudo bibliométrico, que apreseta informações levantadas em torno de uso, potencial e aplicabilidade apresentados em artigos científicos, obtidas em plataformas *Scielo", "Google* Acadêmico" e "Portal Periódicos Capes, na língua portuguesa, entre os anos 2013 a 2018 e de artigos com informações consideradas bases no tema. Os estudos evidenciam que o óleo da macaúba possui perfil para atender as diferentes demandas, no que tange da indústria de biocombustíveis, farmacologia e de engenharia de alimentos todavia, ainda há muito que se explorar diante da singularidade deste coproduto. Conclui-se que ainda há estudos a serem desenvolvidos em torno do óleo extraído da amêndoa e polpa da *Acrocomia aculeata*, quanto ao seu uso como biocombustível, na farmacologia e na indústria de alimentos. Porém, as informações apresentadas evidenciam o potencial do óleo da macaúba para atender as novas demandas mercadológicas.

PALAVRAS-CHAVE: *Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd;* literatura científica; potencial mercadológico.

DIFFERENT POTENTIALS AND USES OF MACAÚBA OIL: A BRIEF REVIEW

ABSTRACT: Acrocomia aculeata is a palm tree with a wide territorial distribution, typical of tropical forests, with potential for full use of its parts, being widely used in the biofuel, pharmacology and food industry. Thus, the objective of this study is to present a bibliometric review about the different potentials and uses of macaúba oil Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart. and their contributions to the biofuel, pharmacology and food industry market. This is a bibliometric study which present information about the use, potential and applicability presented in scientific papers, obtained on platforms Scielo "," Google Academic "and" Portal Periódicos Capes, in the Portuguese language, between the years 2013 to 2018 and articles with information considered bases in the theme. The studies show that macaúba oil has a profile to meet the different demands of the biofuels, pharmacology and food engineering industry, however, there is still a lot to

explore in view of the uniqueness of this coproduct. It is concluded that there are still studies to be carried out on the oil extracted from the almond and pulp of Acrocomia aculeata, regarding its use as biofuel, in pharmacology and in the food industry. However, the information presented evidences the potential of macaúba oil to meet the new market demands.
KEYWORDS: *Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd*; scientific literature; market potencial.

INTRODUÇÃO

A macaúba, *(Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart.),* também conhecida popularmente no Brasil como "bocaíuva", "coco de catarro", "macaíba", "macaibeira", "macajaba" e "coco de espinho", é uma palmeira predominantemente nativa de florestas tropicais, pertencente à família *Arecaceae,* caracteriza-se em geral, por apresentar estipe longo e espinhoso, folhas longas, lisas e espinhosas, em forma de bainhas abertas. As flores apresentam coloração amarelo claro. Os frutos são globosos, levemente achatados, de cor variável conforme grau de maturação, possuem epicarpo consistente, polpa fibrosa de sabor agradável e rico em açúcares. Seu endocarpo é fortemente aderido à polpa e delimitada com uma rígida parede escura. A amêndoa é oleaginosa e comestível. (LORENZI, NEGRELLE, 2006).

Esta palmeira, tipicamente brasileira, de maior disseminação e de fácil propagação por hectare, presente em quase todo o território, ocorre também em países como Bolívia, Paraguai, Colômbia, possui várias aplicabilidades e usos, desde suas folhas, caule, frutos, espinhos. Podendo destacar entre as diferentes categorias de aproveitamento, a extração de óleo de sua polpa e de sua amêndoa, que tem ganhado ascensão em vários setores industriais, trazendo perspectivas favoráveis no suprimento de óleos vegetais no setor químico e alimentício, sobretudo pelo seu importante perfil nutricional e rentabilidade (LORENZI, NEGRELLE, 2006; VALÉRIO *et al.,* 2015).

Não obstante, diante da promissora produção escalar de óleo do fruto desta palmeira que pode chegar a 6.600 kg por hectare, somadas as vantagem de sua vasta aplicabilidade que permeia todos os setores industriais, e consequentemente, ~~a~~ possibilidade de alta lucratividade, Andrade *et al.,* (2017), ainda são consideradas tímidas e subestimados o seu potencial e comercialização (VALÉRIO *et al.,* 2015). Desta forma, a conjuntura de informações evidenciadas na literatura e asconjecturas do cenário mercadológico, podem despertar possibilidades de investimentos para fortalecer o aproveitamento e expansão deste produto em razão da crescente demanda mundial por óleos vegetais, bioenergéticos, produtos farmacológicos, alimentícios, entre outros.

Portanto, esse estudo objetiva apresentar uma revisão bibliométrica acerca das diferentes potencialidades e usos do óleo de macaúba *(Acrocomia Aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart.* e suas contribuições para o mercado de biocombustíveis, farmacologia e indústria alimentícia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa bibliométrica as quais foram consultadas artigos em bases científicos, *"Scielo", "Google* Acadêmico", e "Portal Periódicos Capes". Priorizou-se a leitura de artigos recentemente publicados entre os anos 2013 e 2018 e consideradas publicações com informações relevantes de base no tema. A busca foi realizada usando palavras chaves: "uso do óleo de macaúba", "aplicabilidades do óleo de macaúba", "potencialidade do óleo de macaúba", também, foram realizadas buscas destes termos nos títulos de artigos. A pesquisa deu-se no período de dezembro de 2018 a Janeiro de 2019. Foram excluídas, teses, dissertações e artigos duplicados. Ademais, aplicou-se o filtro para seleção de artigos na língua portuguesa. Foram lidos títulos e resumos para a seleção.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise dos artigos coerentes à busca e objetivos do tema, seguem as considerações dos autores.

De acordo com Valério *et al.,* 2015, o mercado de óleos vegetais tem se mostrado em constante evolução. No que diz respeito a este setor, o perfil mercadológico de alimentos em geral e também de óleos e azeites, tem passado porgrandes modificações, marcadas pela constante renovação frente às exigências e necessidades agrupadas em cinco categorias distintas, a saudabilidade,palatabilidade; apreciação sensorial, bem-estar; praticidade, conveniência; ética, sustentabilidade; confiabilidade e qualidade.

Além disto, a produção de óleos vegetais tem ganhado destaque a nívelmundial, sua demanda e seu consumo nos setores de biocombustível e alimentos são responsáveis por esta expansão. Neste contexto, o óleo extraído do fruto da macaúba possui elevado potencial para se destacar na produção, nacomercialização e no setor de óleos e gorduras vegetais, haja vista a diversidade brasileira da flora oleaginosa como a macaúba (ANDRADE *et al.,* 2017). Nesse estudo ainda ressaltamos as questões nutricionais, sabe-se que é recomendando o consumo de gorduras de fonte vegetal devido suas fontes de ômega 3 e ômega 6, sendo estes ácidos graxos poli-insaturados que atuam na prevenção de doenças cardíacas, dentre outras.

Segundo Nobre *et al.,* 2014, a necessidade de garantir a segurança energética é eminente, e diante do esgotamento dos recurso energéticos não renováveis, aliada às condições socioambientais e a primordialidade pela sustentabilidade, a produção de biocombustível à base de óleo de macaúba constitui uma forte estratégia de uma fonte energética renovável e de potencial econômico considerável.

A despeito da composição do óleo da *Acrocomia acuelata*, Valério *et al.* (2015) destaca diferentes composições conforme parte usada para extração, contendo ácido

graxos saturados e insaturados. O óleo da amêndoa da macaúba é composto por ácidos graxos insaturados e são importantes no processamento industrial, todavia de fácil degradação de sua qualidade. Já do ponto de vista nutricional é um tipo de ácido graxo benéfico à saúde devido contribuir no combate de doenças colesterolemicas, além das doenças cardiovasculates conforme já citado.

Consoante (ANDRADE *et al.,* 2017), o óleo da macaúba possui quantidades de ácidos graxos como o caprílico, cárico, láurico, mirístico, estes presentes no óleo ~~da~~ amêndoa da *Acrocomia acuelata,* já os ácidos graxos palmítico, esteárico, palmitoléico, oleico, linoleico e linolênico são encontrados na polpa e na amêndoa, quantitativamente discrepantes.

Em razão de sua múltipla composição de ácidos graxos, os óleos da amêndoa e polpa da macaúba são destinados aos mais diversos seguimentos.Andrade *et al.,* (2017), destaca o ácido oleico como um importante agente na função metabólica humana e na tonificação nervosa e tecidual, por se tratar de um ácido graxo essencial. Enquanto o ácido láurico apresenta-se como um poderoso antibacteriano, antiviral, antiprotozoal, e recentemente tem ganhado destaque na medicina por ser aplicado no tratamento de herpes simples e na redução da carga viral do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Percebemos nesse contexto a relevância do consumo dos óleos extraídos tanto da amêndoa quanto da polpa da macaúba como complemento nutricional para pacientes com HIV.

O ácido linoleico, um dos ácidos da família dos ômegas 6, tem sido importante no tratamento de redução das lipoproteínas de muito baixa densidade (LDL-c), além de ser usado na manufatura para confecção de bolos, margarina, óleos de saladas e cozinha. Andrade *et al.,* (2017), ainda ressalta sobre as aplicabilidades dos demais ácidos graxos que compõe o óleo extraído da amêndoa epolpa da *Acrocomia aculeata*, como o Palmítico e mistírico, cáprico estes são destinados, sobretudo a fabricação de cremes e emulsões e demais cosméticos. Jáo esteárico é diferenciado na indústria alimentícia por diminuir o ponto de fusão na fabricação de margarinas. Enquanto o linolênico, da família dos ômegas 3, retarda a coagulação sanguínea quando consumido em grande quantidade e reduz os triglicérides séricos. Conforme tais achados, percebemos nos estudos do autor supracitado arelevância de inserir o óleo extraído da amêndoa e polpa da *Acrocomia aculeata* no consumo diário da população em geral conforme dosagem prescrita pelo profissional nutricionista. ANDRADE *et al.*2017*,* enfatiza ainda, a grande viabilidade de modo geral, nas indústrias nacionais e principalmente na internacional destes ácidos, como na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética, de defensivos agrícolas e de produtos biológicos.

Outra possibilidade levantada por Couto e Oliveira (2014) é o uso do óleo da macaúba como base para lubrificantes como alternativa em substituição da base mineral deste produto, todavia mostram-se necessários ajustes para torna-lo apto a esta finalidade.

A literatura ainda apresenta o óleo da amêndoa da macaúba como promissor no emprego industrial de flotação de minério apatita, já que este mostrou-se como melhor

coletor em relação aos outros óleos testados em estudos semelhantes (SILVA; SILVA; ROCHA, 2015).

Após a realização das buscas, poucos artigos trouxeram com clareza a proposta da pesquisa. De modo geral, os resultados encontrados em torno do tema, enfatizaram inúmeras possibilidades do uso e o potencial de aplicabilidades do uso do óleo de macaúba. Percebeu-se que os autores destacaram a composição diferenciada dos óleos das diferentes partes, amêndoa e polpa, cada qual, com seu potencial distinto, além da evolução e demanda do mercado de óleos e gorduras. Um aspecto considerável pela maioria dos autores é o forte potencial do óleo da macaúba para a produção de biocombustível, tendo em vista que o País possui condições privilegiadas para sua produção. Ademais, os ácidos graxos que compõe estes óleos foram trazidos como destaques, devido à importância no ponto de vista nutricional e medicinal, na prevenção e tratamento de doenças, bem como na indústria alimentícia, como opção de óleo vegetal e coprodutos.

CONCLUSÃO

Inferiu-se que há uma diversidade de estudos em torno do óleo extraído da amêndoa e polpa da *Acrocomia aculeata,* tanto quanto ao seu uso como biocombustível, como na farmacologia e também de forma nutricional inserida nos alimentos. Porém as pesquisas sobre o óleo e seu potencial ainda requerem espaço e avanços diante das possibilidades de aplicações sugeridas a esse produto. Desta forma, as informações trazidas reforçam e evidenciam a importância do óleo da macaúba que possui perfil para atender as novas demandas e propostas de óleos vegetais considerando a sustentabilidade, inovação, qualidade e rentabilidade do produto.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. H. C.; VIEIRA, A. S.; AGUIAR, H. F.; CHAVES. J. F. N.; NEVES, R. M. P. S.; MIRANDA, T. L. S.; SALUM, A. Óleo do fruto da palmeira macaúba - ParteI: uma aplicação potencial para indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos. In: ITECNIQ (Seminário sobre Tecnologia na Indústria Química), II ENBTEC (Encontro Brasileiro sobre Tecnologia na Indústria Química e VII Seminário de Produtores de Olefinas e Aromáticos), 3º Seminário de ABIQUIM (Associação Brasileira da Indústria Química), (2017) Minas Gerais. **Anais...** Minas Gerais:: I TECNIQ, II ENBTEC e 3º Seminário de ABIQUIM, (2017.)

COUTO, S. C. P.; OLIVERIA, A. M.; Avaliação do uso do óleo de macaúba comobase para lubrificante. In: XX COBEQ (Congresso Brasileiro de Engenharia Química), 2014, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: XX COBEQ, 2014, p. 1-8.

LORENZI, G. M. A. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex. Mart: aspectos ecológicos, usos e potencialidades. **Visão Acadêmica,** Curitiba, v.7,n.1, 2006.

NOBRE, D. A. C.; TROGELLO E.; BORGHETTI, R. A.; DAVID, A. M. S. S. Macaúba: palmeira de extração sustentável para biocombustível. **Colloquium Agrariae,** v. 10,n.2, jul-dez. 2014, p.92-105.

SILVA, A. C.; SILVA, E. M. S.; ROCHA,T. W. P. Microflotação de apatita utilizandoóleo da castanha de macaúba (*acrocomia aculeata*) como coletor. **Tecnol. Metal. Mater. Miner.,** São Paulo, v. 12, n. 2, p.146-152, abr-jun, 2015.

VALÉRIO, P. P.; GRANDE, S. C.; ANDRADE, M. H. C. DE; CREN, E. C.; Perspectivas para um novo produto alimentício a base de óleo extraído do fruto damacaúba (Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart), p. 4458-4465 . **In:** Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014. São Paulo: Blucher, 2015.

CAPÍTULO 7

ANÁLISE NUTRICIONAL, QUÍMICA E ANATÔMICA DE MARUPAZINHO (*ELEUTHERINE BULBOSA* (MILL.) URB – IRIDACEAE) DE BELÉM DO PARÁ, BRASIL

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 03/12/2021

Ana Cláudia de Macêdo Vieira
LabFBot - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Docente (Professor associado)
Rio de Janeiro - RJ
0000-0002-8919-1215

Ana Paula Ribeiro de Carvalho Ferreira
LabFBot - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Graduanda em Farmácia
Rio de Janeiro - RJ
0000-0002-0729-4852

Mariana Aparecida de Almeida Souza
LabFBot - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Discente do PPGCiAC - UFRJ
Rio de Janeiro - RJ
0000-0002-1636-5667

João Paulo Guedes Novais
LabFBot - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Graduando em Farmácia
Rio de Janeiro - RJ
0000-0002-3994-9657

Dayane Praxedes da Silva
LabFBot - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Discente do PPGCTECFAR - UFRJ
Rio de Janeiro - RJ
0000-0002-8563-316X

Mirian Ribeiro Leite Moura
LabCBroM - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro – Docente (Professor associado)
Rio de Janeiro - RJ
0000-0003-1358-2348

RESUMO: Em 2009, com a publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), 71 espécies, dentre elas, *Eleutherine bulbosa*, foram listadas com base no conhecimento tradicional, e estudos químicos/farmacológicos disponíveis. A espécie também é utilizada como alimento não convencional (PANC) em regiões amazônicas. *E. bulbosa,* conhecida popularmente por Marupazinho, jabutiana, ou cebola-roxa-mansa, é uma herbácea bulbosa, perene, nativa da América Tropical. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a morfologia e a anatomia dos bulbos de marupazinho, assim como determinar sua composição centesimal. Os bulbos de *E. bulbosa* foram adquiridos no mercado Ver-o-peso, em Belém do Pará, em julho de 2017. Foram realizadas a caracterização morfológica com material fresco e anatômica com material fixado em glutaraldeído em tampão fosfato, infiltrado em parafina e corado com azul de astra e safranina. Os testes histoquímicos foram realizados em secções transversais, submetidas aos reagentes de cloreto férrico, lugol e sudan IV, acetato de chumbo, acetato de cobre, reagentes de Mayer e de Bertrand. As análises microquímicas foram realizadas através da marcha de Matos. As análises para determinação

da composição centesimal foram realizadas de acordo com metodologia descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz de 2018 com bulbos de marupazinho desidratados a 45 ºC/48h. Os estudos morfológicos e anatômicos dos bulbos de marupazinho forneceram subsídios para seu correto reconhecimento, para fins medicinais e alimentícios. A análise microquímica reforça seu potencial farmacológico, pois foram identificados compostos, como: fenóis, taninos, flavonóides, esteroides e triterpenoides, que validam suas propriedades antifúngicas, antiparasitárias e antibacterianas. O estudo da composição centesimal aponta a espécie, quando desidratada, como potencial fonte energética de carboidrato (80,22 ± 0,67) e minerais (2,49 ± 0,22), mas principalmente, proteínas (10,38 ± 0,21). Portanto, os dados do presente estudo validam *Eleutherine bulbosa (*marupazinho*)* como planta medicinal, além de constituir boa fonte nutricional.
ABSTRACT: *Eleutherine bulbosa*, composição centesimal, análise química, caracterização anatômica.

NUTRITIONAL, CHEMICAL AND ANATOMICAL ANALYSIS OF MARUPAZINHO (*ELEUTHERINE BULBOSA* (MILL.) URB – IRIDACEAE) FROM BELÉM DO PARÁ, BRAZIL

ABSTRACT: In 2009, with the publication of the National List of Medicinal Plants of Interest to the SUS (RENISUS), 71 species, including *Eleutherine bulbosa*, were listed based on traditional knowledge and available chemical/pharmacological studies. The species is an unconventional food (PANC) in Amazonian regions. *E. bulbosa*, popularly known as Marupazinho, jabutiana, or purple onion, is a perennial bulbous herbaceous native to Tropical America. The objective of this work was to characterize the morphology and anatomy of marupazinho bulbs and determine their centesimal composition. We purchased Bulbs of *E. bulbosa* at the Ver-o-peso market in Belém do Pará in July 2017. We characterized the morphological characterization with fresh plants and anatomical characterization with samples fixed in glutaraldehyde in phosphate buffer, infiltrated in paraffin, and stained with astra and safranine blue. We made histochemical tests on cross-sections, submitted them to ferric chloride, lugol, sudan IV reagents, lead acetate, copper acetate, Mayer's, and Bertrand reagents. We made microchemical analyses using the Matos directions. The analysis to determine the centesimal composition followed the methodology described by the Analytical Norms of the Instituto Adolfo Lutz of 2018 with dehydrated marupazinho bulbs at 45°C/48h. Morphological and anatomical studies of marupazinho bulbs supported their correct recognition for medicinal and food purposes. The microchemical analysis reinforces its pharmacological potential, as compounds such as phenols, tannins, flavonoids, steroids, and triterpenoids were identified, validating their antifungal, antiparasitic and antibacterial properties. The study of the centesimal composition indicates the species, when dehydrated, as a potential energy source of carbohydrates (80.22 ± 0.67) and minerals (2.49 ± 0.22), but mainly proteins (10.38 ± 0, 21). Therefore, the data from our study also validate *Eleutherine bulbosa* (marupazinho) as a medicinal plant and an excellent nutritional source.
PALAVRAS-CHAVE: *Eleutherine bulbosa*, centesimal composition, chemical analysis, anatomical characterization.

1 I INTRODUÇÃO

1.1 Plantas Medicinais e o RENISUS

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998) define como plantas medicinais "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos". Sendo comumente utilizadas em diversas culturas, a OMS (WHO, 2009) demonstrou que 60-90% da população, em alguns países em desenvolvimento, são dependentes das práticas medicinais tradicionais para as suas necessidades de cuidados de saúde primários, onde 85% são oriundas de plantas medicinais e seus extratos. Destacou-se também, de acordo com a porcentagem mundial, que 67% das espécies vegetais do tipo medicinais, são originadas de países em desenvolvimento (BRASIL, 2006; ALONSO, 1998).

Em fevereiro de 2009, foi divulgado pelo Ministério da Saúde (MS), a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) (BRASIL, 2009). Para a constituição da listagem da RENISUS, o Ministério da Saúde levou em consideração, espécies vegetais com evidências para indicação de uso na atenção básica de saúde, o conhecimento tradicional e popular, e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis (BRITO, 2016; TEIXEIRA, 2013). Na lista estão contempladas, além da espécie *Eleutherine bulbosa*, outras 70 espécies de plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS).

1.2 Plantas alimentícias não convencionais (PANC)

Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) são plantas com uma ou mais categorias de uso alimentício indicadas, mesmo que não sejam habituais, rotineiras ou que não façam parte do cotidiano da maior parte da população de uma região ou país, uma vez que, atualmente, a alimentação básica tornou-se muito globalizada, sendo até mesmo monótona. Apesar de interessante, o acrônimo carrega algumas fraquezas e falhas, pois aquilo que é não convencional ao Sul do país, pode ser corriqueiro ao Norte e vice-versa, no entanto, tornou-se a categorização mais adequada (KINUPP; LORENZI, 2014).

As PANC, por serem fontes de diversos nutrientes, possuem amplo potencial alimentício. Porém, com o passar dos anos estas plantas caíram em desuso por conta de fatores diversos, podendo citar, entre tantos, a urbanização de diversas regiões, que provocaram redução das áreas para quintais e hortas caseiras, a prática de cultura extensiva que leva muitas vezes à monocultura e a migração de jovens do campo para a área urbana conduzindo à quebra na cadeia de transmissão de saberes (VIEIRA et al., 2018).

O valor nutricional das hortaliças não-convencionais, como também são chamadas, conforme a espécie, está relacionado a teores significativos de sais minerais, vitaminas, fibras, carboidratos e proteínas, além do reconhecido efeito funcional (BRASIL, 2010). Segundo estes autores, seu cultivo no Brasil é feito predominantemente por agricultura

familiar, onde o conhecimento do cultivo e consumo dessas plantas foram passados de geração a geração e sem nenhum apelo comercial, sendo a maioria dos cultivos nos quintais para o consumo da própria família.

Levando em conta a escassez de trabalhos científicos ou mesmo a ampla divulgação de PANC, como bem observado por Knupp e Lorenzi (2014), o Laboratório de Farmacobotânica (LabFBot), com auxílio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER) nos municípios de Magé e Guapimirim, promoveram encontros com o grupo de agricultores que faziam parte do projeto de extensão, "Uso e cultivo racionais de plantas medicinais pelos agricultores da microbacia do rio Cachoeira Grande – Magé – RJ". Em uma das reuniões, foi apresentado aos alunos e professores do LabFBot a *Eleutherine bulbosa* e solicitadas informações acerca da composição nutricional, uso correto e segurança na ingestão.

1.3 *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb – marupazinho

Dentre as espécies listadas na RENISUS, destaca-se neste estudo *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb, pertencente à família Iridaceae, nativa da Colômbia (em altitudes de 300 a 1400 metros), Amazônia, Andes e Valle del Cauca (POWO, 2019), conhecida popularmente por marupazinho, marupari, marupá-piranga, coquinho, palmeirinha, lírio-folha-de-palmeira, wá-ro, jabutiana, nhambutitana (LORENZI; MATOS, 2002; RIGO, 2011).

E. bulbosa é uma herbácea bulbosa e rizomatosa, entouceirada, de 20 a 30 cm de altura, nativa da América tropical, incluindo os campos secos da Amazônia brasileira. Seus bulbos, de cor vinho externamente, possuem escamas semelhantes à cebola, quando cortados exsudam látex branco. Possui folhagem simples, de cerca de 25 cm de comprimento, inteiras e plissadas longitudinalmente. As flores, que se abrem apenas ao pôr do sol, podem ser brancas ou rosadas, dispostas numa panícula ampla no ápice de um longo escapo rígido acima da folhagem (ALMEIDA, 2016; SPISLA, 2017; LORENZI; MATOS, 2002). Segundo Lorenzi e Matos (2002), essa planta medicinal em muitas áreas se torna tão persistente, devido a sua facilidade de multiplicar-se por bulbos, que é considerada uma "planta daninha".

Sendo amplamente utilizados pela população, os bulbos de marupazinho são empregados para o tratamento de diarreias, inflamações, hemorroidas, gastralgia, histeria e vermes intestinais (MALHEIROS, 2008; MARQUES, 2020; LORENZI; MATOS, 2002). Porém, é importante salientar que, as atividades farmacológicas cientificamente já comprovadas, dos extratos de *E. bulbosa*, são as atividades antimicrobianas (PADHI; PANDA, 2015), anti-inflamatória (PARAMITA; NURYANTO, 2018) e antifúngica (ALVES et al., 2003).

Apesar de escassas informações relacionadas às suas propriedades comestíveis, é sabido que a população da região amazônica, onde é comumente encontrado, possui como costume sua utilização para fins alimentícios. Além das tradições orais, é possível

encontrar websites informativos descrevendo suas características, sabores e semelhanças com a cebola roxa, como bem observado pela nutricionista Neide Rigo (RIGO, 2011; RIGO, 2014). Embora seja uma planta de uso tradicional, não há estudos sistemáticos sobre a composição centesimal desta espécie, o que demonstra a importância do presente estudo.

2 I OBJETIVOS

- Caracterizar a morfologia e a anatomia dos bulbos de *Eleutherine bulbosa* de forma a oferecer dados para identificação correta da espécie;

- Realizar as análises microquímica e histoquímica a fim de garantir o uso seguro do marupazinho.

- Realizar a análise físico-química para fornecer informações sobre o conteúdo nutricional da espécie de modo a estabelecer um padrão quantitativo de forma inédita.

3 I MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras dos bulbos de marupazinho (*Eleutherine bulbosa*) foram adquiridos no mercado Ver-o-peso em Belém do Pará em julho de 2017.

Para a realização das análises de composição centesimal, os materiais e equipamentos foram disponibilizados pelo Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico (LabCBroM), enquanto as demais análises, histoquímica, microquímica, anatômica e morfológica, foram realizadas no LabFBot.

3.1 Análise Morfológica e Anatômica

O material recebido foi fotografado com auxílio do escalímetro, alocados próximos uns aos outros, para que a variação de tamanho fosse evidenciada. Para realização do estudo morfológico da porção interior os bulbos foram cortados transversalmente.

Para análise anatômica utilizou-se a técnica descrita por Kraus e Arduin (1997), as amostras recebidas foram fixadas em paraformaldeído 4% e glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 50mm pH 7,2, desidratados em série alcoólica e infiltrados em Paraplast®. Após realizada a técnica de inclusão e infiltração, para obtenção dos cortes, utilizou-se micrótomo rotativo Lupetec® em secções com 10 a 12 µm de espessura e coradas com solução de safranina e azul de astra (KRAUS; ARDUIN, 1997).

3.2 Análise Histoquímica

A análise foi realizada a partir de secções à mão livre com o auxílio de lâmina de barbear e do micrótomo do tipo Ranvier para corte do bulbo fresco a fim de detectar a presença de compostos fenólicos, taninos, alcaloides, lipídeos e amido. Para detecção dessas substâncias, as secções obtidas foram submetidas aos seguintes tratamentos específicos, respectivamente: Cloreto férrico (KRAUS; ARDUIN, 1997; JOHANSEN, 1940); acetato de cobre e acetato de chumbo (COSTA, 2000); reagentes de Bertrand e Mayer

(COSTA, 2000); sudan IV (SASS, 1951); lugol (JENSEN, 1962).

Os cortes foram montados em lâmina e lamínula com glicerina a 50% ou água destilada dependendo do teste empregado, e analisados e fotografadas em microscópio óptico Carl Zeiss.

3.3 Análise Microquímica:

Para prospecção química, parte do material recebido foi submetido à secagem em estufa (45ºC) por um período de dois dias, triturados e submetidos a processo de extração com etanol 70% (p/p) como solvente por três dias, em temperatura ambiente (25 ºC). O extrato obtido foi filtrado em lã de vidro e armazenado ao abrigo de luz e calor, para realização dos testes microquímicos, seguindo o protocolo descrito por Matos (1998), e avaliação do índice de espuma, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

3.4 Análise da Composição Centesimal:

Para garantir melhores resultados, tendo em vista a alta perecibilidade, os bulbos de marupazinho foram previamente lavados, cortados ao meio e submetidos ao processo de secagem a temperatura de 45 °C durante 48 horas. Em seguida foram triturados em multiprocessador, de forma a facilitar as pesagens para cada uma das análises.

As análises foram realizadas em triplicata, consistindo na determinação dos valores de umidade, cinzas, proteína, lipídeo e carboidratos, seguindo os métodos físico-químicos estabelecidos pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Todos os resultados obtidos foram organizados em tabela e apresentados com média ± desvio padrão.

4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização morfológica e anatômica

Eleutherine bulbosa (Fig. 1) é uma planta herbácea, com até 30 cm de altura, com bulbos de cor vermelho violáceo, piriformes, formados por catafilos secos na periferia e carnosos na região central, folhas verdes simples, lineares a lanceoladas, com aspecto plicado e flores hermafroditas, trímeras, de coloração branca. Essas características fazem dela uma planta de fácil cultivo, sendo muitas vezes utilizada em jardins na região Norte do país, não apenas pelo aspecto ornamental, mas, também, pelo uso medicinal popular preconizado pelas tradições (PALHETA et al, 2017).

Figura 1. *Eleutherine bulbosa* – aspectos macroscópicos. A- Aspecto geral de plantas em estado vegetativo. B – Detalhe de flores. C- Detalhe dos bulbos, mostrando a coloração característica e o aspecto seco dos catafilos externos. D- Corte transversal do bulbo mostrando sua organização interna.

Os cortes transversais feitos no material infiltrado com parafina (Fig. 2) revelaram que os bulbos de *E. bulbosa* utilizados no presente estudo possuem uma estrutura similar à descrita por Borges et al (2020). Os catafilos apresentam disposição espiralada e, ao centro, é possível observar os primórdios foliares com o aspecto plicado característico das folhas adultas (Fig. 2A).

Os catafilos (Fig. 2B) são constituídos por epiderme uniestratificada em ambas as faces, com células comuns quadrangulares em corte transversal, mesofilo homogêneo constituído por camadas de parênquima fundamental com células com contorno e tamanho variável, paredes delgadas e, em sua maioria, repleta de grãos de amido (Fig. 2D). O número de camadas de células parenquimáticas varia conforme a região do catafilo, sendo o número maior na região central e menor junto aos bordos. No mesofilo é possível observar a ocorrência de feixes vasculares colaterais (Fig. 2C) dispostos de forma paralela ao longo de todo o arco do catafilo.

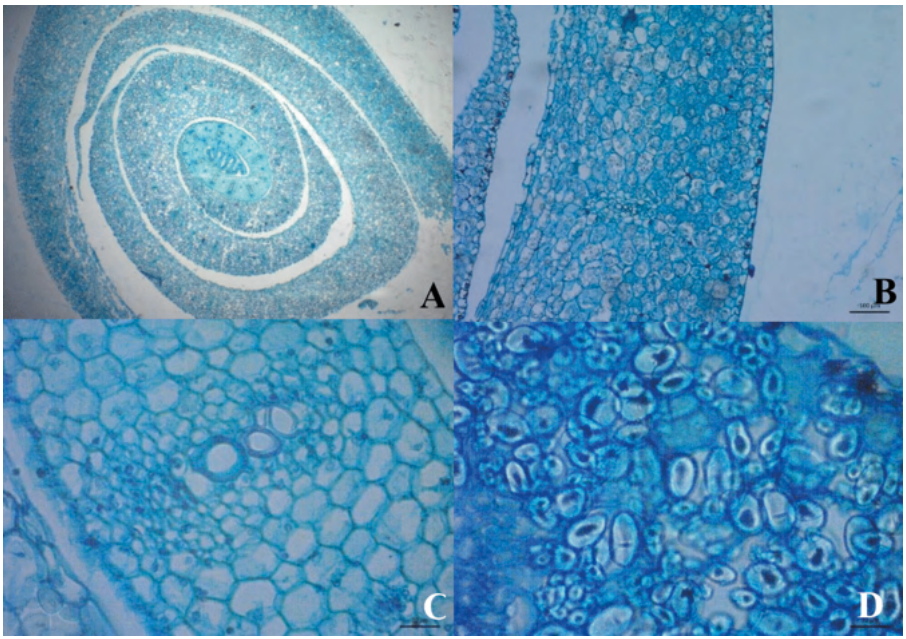


Figura 2: Cortes transversais no bulbo de *Eleutherine bulbosa*. A - Região mediana do bulbo mostrando a disposição espiralada dos catafilos e, ao centro, primórdios foliares com aspecto plicado. B – Detalhe do catafilo na região mediana, exibindo epiderme uniestratificada em ambas as faces e mesofilo homogêneo. C- Detalhe de feixe vascular colateral. D – Detalhe dos grãos de amido no interior das células parenquimáticas.

Os cortes feitos nos bulbos frescos mostraram algumas informações relevantes (Fig. 3). Na figura 3A é possível ver detalhe da epiderme da face externa do catafilo em corte transversal e na figura 3B um detalhe da epiderme da face interna. Em ambas as figuras é possível verificar a presença de conteúdo fortemente corado nas células comuns da epiderme, o que justifica a coloração exibida pelos bulbos de marupazinho. No trabalho de Borges et al (2020), os autores fazem referência também a este tipo de pigmentação, ressaltando a possibilidade de acúmulo de substâncias fenólicas.

Pozzan et al (2012) ressaltam a importância de antocianinas em outras espécies vegetais e associam sua presença com benefícios para a saúde humana. No entanto, os pigmentos presentes em diferentes espécies vegetais apresentam funções biológicas variadas, atuando na proteção contra raios UV e proteção contra predadores e patógenos. A coloração dos bulbos de marupazinho provavelmente está associada à produção contra patógenos presentes no solo.

Os grãos de amido de *E. bulbosa* (Fig. 3C) apresentam formatos e tamanhos variáveis, constituindo um elemento importante para a caracterização da espécie. Sob luz polarizada (Fig. 3D) os mesmos grãos apresentam a clássica formação em “cruz de malta” que ajuda a identificação desse metabólito. A presença de grande quantidade de grãos de amido nos bulbos é algo esperado, uma vez que estes se constituem em órgãos de reserva

e sua estrutura guarda similaridade com as estruturas descritas por Mann (1952) para bulbos do gênero *Allium*, muitos comestíveis, como a cebola, alho e alho poró.

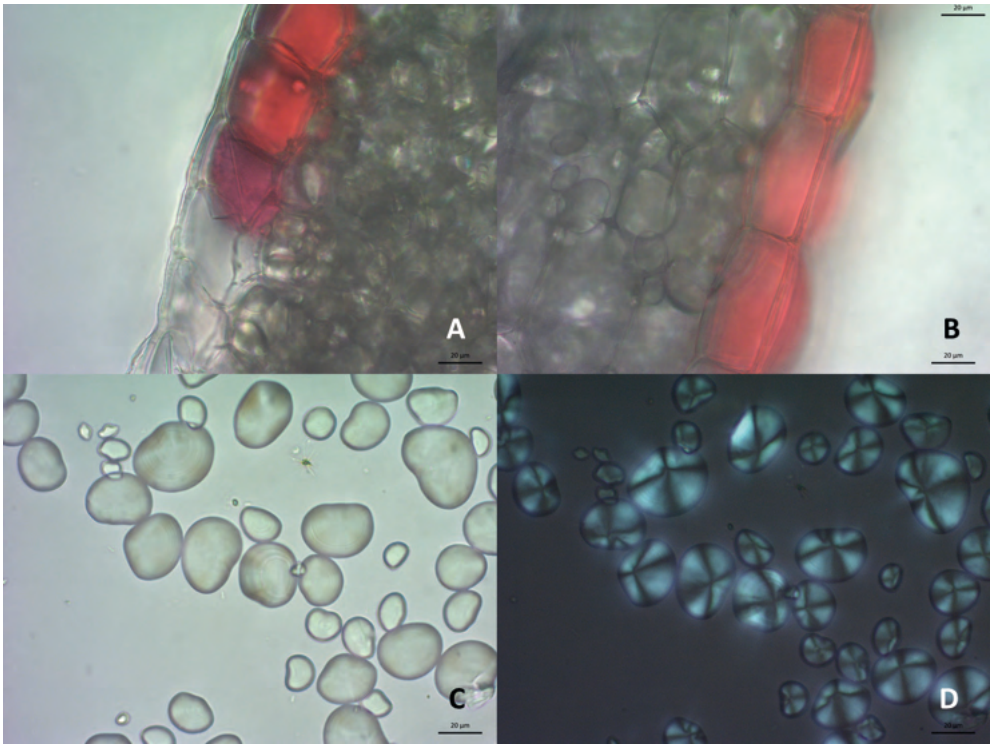


Figura 3: Análise microscópica de material fresco de *Eleutherine bulbosa*. A- Detalhe de epiderme da face externa do catafilo. B Detalhe de epiderme da face interna do catafilo. C- Aspecto dos grãos de amido sob luz comum. D- Aspecto dos grãos de amido sob luz polarizada.

4.2 Análise Histoquímica

A histoquímica tem como objetivo detectar os principais grupos químicos recorrentes nos tecidos, assim como determinar a natureza das substâncias presentes e sua localização (FIGUEIREDO et al., 2007).

Os resultados encontrados pela ação de cada um dos reagentes químicos estão demonstrados na Tabela 1.

Através da análise histoquímica dos cortes transversais dos bulbos, foi possível observar com auxílio do Lugol, vasta distribuição de amido em células parenquimatosas do mesofilo, corroborando com os dados obtidos na análise centesimal e com o estudo realizado por Borges et al. (2020). Os catafilos do presente estudo, assim como Borges et al. (2020) reagiram positivamente para compostos fenólicos, quando tratados com $FeCl_3$.

Reagentes químicos	Substâncias detectáveis	Resultado
Cloreto Férrico	Compostos fenólicos	+
Acetato de cobre	Taninos	+
Acetato de chumbo		+
Reagente de Mayer	Alcaloides	+
Reagente de Bertrand		+
Lugol	Amido	+
Sudan IV	Substâncias lipofílicas	-

Tabela 1. Tipos de reagentes químicos para caracterização histoquímica, com respectivas substâncias detectáveis (KRAUS & ARDUIN, 1997; COSTA, 2000) e resultados da análise histoquímica da amostra de *Eleutherine bulbosa.*

Como já demonstrado e evidenciado por diversos autores, incluindo Oliveira (2019), a espécie apresenta taninos e alcaloides em sua composição química. Por meio da histoquímica, foi possível compreender melhor a localização desses componentes, demonstrando a presença de taninos, através da cor marrom, nos feixes vasculares, e alcaloides nas células parenquimáticas do catafilo, corados em vermelho.

O resultado negativo para sudan IV mostra a ausência de substâncias lipídicas. Apesar de presente na análise centesimal, é importante ressaltar que a esta foi realizada em material desidratado, que representa um volume maior que aquele utilizado nos testes histoquímicos com material *in natura*, tal fato pode justificar os resultados obtidos.

4.3 Análise Microquímica

Os testes microquímicos possuem grande importância para a identificação de substâncias biologicamente ativas, fornecendo informações relevantes sobre as diferentes classes químicas presentes na espécie estudada e auxiliando na avaliação de sua ação farmacológica, além de detectar compostos antinutricionais.

E. bulbosa possui como principais componentes as naftoquinonas, essa possui propriedades antifúngicas, antiparasitárias e antibacterianas, porém foi observada no presente estudo também a presença de taninos, triterpenos e saponinas, o que corrobora com a ação bactericida descrita por Dias et al, 2018. Malheiros; Mello e Barbosa (2015) identificaram além desses compostos, a presença de esteroides, azulenos, antraquinonas, fenóis, açucares redutores e derivados de cumarina em diferentes extratos elaborados com bulbos da espécie. Estes dados ressaltam a importância da padronização analítica para uma boa interpretação dos resultados, desde a extração até as etapas finais de um trabalho.

4.4 Fenóis e taninos:

Silva e Silva (1999), afirmam que os fenóis são pertencentes a uma classe de metabólitos secundários, que possuem ampla distribuição nas plantas, enquanto os taninos, possuidores de forte ação oxidante, são responsáveis por reduzir a digestibilidade de proteínas, inibir a ação de enzimas digestivas e interferir na absorção de ferro, sendo este um importante fator antinutricional. Os taninos atuam ainda como captadores de radicais livres e possuem atividades antivirais, antimicrobianas, antifúngicas, antidiarreicas e antissépticas. (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAUJO, 2005).

Classes químicas	Extrato hidroalcóolico
Fenóis	+
Taninos	+
Flavonois, flavanonas, flavononois e xantonas	+
Antocianinas e antocianidinas	+
Flavonas, flavonois e xantonas	-
Chalconas e Auronas	+
Flavononois	-
Esteroides e triterpenoides	+
Leucoantocianidinas	-
Catequinas	-
Flavanonas	+
Saponina	-

Tabela 2. Análise microquímica do extrato hidroalcóolico dos bulbos de *Eleutherine bulbosa.*

Assim como Dias et al (2018) e Malheiros; Mello e Barbosa (2015), o presente trabalho encontrou em sua análise química, fenóis e taninos, entretanto por tratar-se de um teste não quantitativo, não se pode afirmar a quantidade de taninos presente na amostra, não sendo possível determinar se há danos ou não após seu consumo.

4.5 Flavonoides

Antocianinas, Antociadinidinas, flavanonas, chalconas e auronas, todas pertencentes

a classe dos flavonoides, foram detectadas no presente estudo químico realizado.

Atualmente, já foram descritos mais de 8000 flavonoides diferentes, sendo as suas principais classes os flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanas, isoflavonoides e antocianinas (FLAMBÓ, 2013). Os flavonoides exercem diversas funções nas plantas, em especial sua ação protetora para radiação UV e microrganismos (NIJVELDT et al., 2001).

Como descrito inicialmente, os bulbos da espécie estudada possuem coloração vermelho forte, o que justifica a confirmação de antocianinas e antocianidinas. Tendo em vista também, as atividades biológicas das flavanonas e chalconas, em comparação com as propriedades medicinais do marupazinho, é possível compreender o resultado encontrado.

A coloração das plantas está associada à sua estrutura química, as antocianinas por sua vez, são pigmentos vegetais que variam do vermelho intenso ao violeta azulado (CASTAÑEDA, 2009; SBF, 2009). Diferente dos demais flavonoides, as flavanonas são cetonas incolores que não dão pigmentação para as plantas, entretanto estudos de suplementação com suco de laranja ou com flavanonas na forma isolada, demonstraram atividades antioxidantes, hipolipidêmicas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias e antidiabéticas (SILVEIRA, 2014). Assim como as demais classes de flavonoides, as chalconas possuem grande interesse químico-farmacológico, dentre os quais estão as atividades antioxidante, antinociceptiva, anticonvulsivante e anti-inflamatória (FERREIRA et al, 2018).

4.6 Esteroides e Triterpenóides

Os triterpenóides são outra classe de compostos de origem vegetal com interessante atividade biológica e farmacológica, que possuem diversas funções nas plantas, como por exemplo, a defesa contra patógenos e predadores (SANTOS, 2010).

Assim como DIAS *et al.* (2018), Malheiros; Mello e Barbosa (2015), o presente estudo observou a presença de Triterpenóides e esteroides na análise hidroalcóolica dos bulbos. O potencial de uso medicinal desses compostos, sobretudo relacionado à sua ação anti-inflamatória, antibacteriana, fungicida, antiviral, analgésica, cardiovascular e antitumorais (PATOčKA, 2003) justificam sua presença na lista do RENISUS.

4.7 Saponinas

Saponinas bem como taninos, são consideradas fatores antinutricionais, devido sua interferência na absorção das vitaminas E e A, ácidos biliares, colesterol e lipídeos. Entretanto, é da classe de metabólito secundário que atuam sobre as membranas celulares, o que garante suas propriedades: anti-helmíntica, anti-inflamatória e antiviral; ação expectorante e diurética; e as vezes, hemolítica. (FIGUEIREDO, 2015; SIMÕES *et al.*,2010)

Após a realização do teste, observou-se em todos os tubos, a ausência de anel de espuma, indicando resultado negativo para a presença de saponinas. Com a realização

de metodologia similar, onde também foi analisada a formação de camada de espuma em alíquota de extrato hidroalcóolico em meio aquoso após vigorosa agitação, Silva (2013) também não obteve resultado positivo para saponinas.

Estudos que demonstraram resultados positivos para saponinas, utilizaram o fracionamento do extrato etanólico em acetato de etila e solução hidrometanólica (MALHEIROS, 2015), metodologia distinta da utilizada no presente trabalho, o que pode justificar as diferenças observadas.

4.8 Análise Nutricional

Os resultados obtidos da análise nutricional dos bulbos de marupazinho, estão descritos na Tabela 3. Os valores são expressos como média dos três resultados obtidos em cada um dos parâmetros, juntamente com os respectivos desvios padrão (DP).

Como o presente trabalho traz o estudo inédito sobre composição centesimal de marupazinho (*Eleutherine bulbosa*), também conhecido como cebola-roxa-mansa, os resultados obtidos em base seca (Tabela 3) foram comparados, por sua semelhança morfológica com a cebola (*Allium cepa* L.), cujos dados encontram-se descritos na literatura. Para tal utilizou-se as tabelas TACO (2011) e TBCA – USP (2017). Entretanto, para que fosse possível realizar a comparação, foi necessário a padronização dos dados, da literatura, utilizando os parâmetros em base seca (Tabela 4).

	Marupazinho	
Parâmetros	Desidratado	Base seca
Umidade	13,26 ± 0,27	-
Proteínas	10,38 ± 0,21	11,97 ± 0,25
Cinzas	2,49 ± 0,22	2,87 ± 0,26
Lipídeos	2,99 ± 0,46	3,44 ± 0,53
Carboidratos	80,22 ± 0,67	81,72 ± 0,76
Valor Calórico Total	389 ± 2,83	449 ± 3,27

Tabela 3. Resultados obtidos (valor médio ± desvio padrão) na determinação da composição centesimal (g/100g) de bulbos de marupazinho *(Eleutherine bulbosa)*, desidratados a 45 ºC/48h) e em base seca.

	Cebola (TACO*)		Cebola branca (TBCA**)		Cebola (TBCA**)	
Parâmetros	Crua	Base seca	Crua	Base seca	Em pó	Base seca
Umidade	88,90	-	88,40	-	5,39	-
Proteínas	1,70	15,31	1,76	15,17	10,40	10,99
Cinzas	0,40	3,60	0,54	4,65	4,04	4,2
Lipídeos	0,10	0,98	0,13	1,12	1,04	1,10
Carboidratos	8,90	80,18	9,21	79,40	79,10	83,61
VCT	39	351	41	353	337	356

Tabela 4. Composição centesimal de cebola crua e em pó (*Allium cepa* L.) segundo tabelas TACO e TBCA – USP. E os resultados do cálculo em base seca (cebola crua e em pó). Valores expressos em grama (g) de componentes analisados por 100 gramas de parte comestível.

FONTE: *TACO - NEPA – UNICAMP, 2011; **USP, 2017.

Um dos principais parâmetros a serem analisados, é a umidade de um alimento, não só por sua grande importância econômica, pois afeta tanto na perecibilidade, quanto no teor de sólidos do produto. Como está altamente relacionada com a degradação por microrganismos, alimentos que possuem valor de umidade, fora das recomendações técnicas, perdem sua estabilidade química, sendo mais favoráveis a deterioração microbiológica, alterações fisiológicas (brotação) e modificações na qualidade geral dos alimentos. Em contrapartida, a diminuição do conteúdo de água no alimento, pode ser estratégica pois possibilita a melhora da qualidade e garante maior vida útil (EEEP 2013; CELESTINO, 2010).

Observa-se que o teor de umidade de bulbos de marupazinho (tabela 3) foi de 13,26 ± 0,27 g/100g, portanto a desidratação, secagem em estufa a 45 ºC/48h, utilizada para conservação, no presente estudo, foi importante para manutenção das amostras ao logo das análises. Entretanto, quando comparado com a umidade da cebola em pó (5,39 g/100g), constate-se que essa diferença pode resultado do emprego de secagem, possivelmente, por liofilização, embora não haja menção sobre o tipo de processo utilizado na obtenção de cebola em pó, nos dados da TACO (2011) do NEPA – UNICAMP.

A secagem por liofilização é um processo muito utilizado para preservação de alimentos perecíveis, onde a água é retirada por sublimação, garantindo perda mínima de nutrientes e maior retirada de conteúdo de água (CELESTINO, 2010).

Encontrados amplamente nos alimentos, os carboidratos são macronutrientes capazes de promover o fornecimento de energia para o organismo. Sua ingestão, evita que as proteínas dos tecidos sejam utilizadas para suprimentos energéticos, entretanto quando consumidos em altas quantidades, em principal na sua forma simples, representam

fator de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes, além da obesidade (RADAELLI, 2005; ROSADO; MONTEIRO, 2001). Ao relacionar os resultados de carboidratos totais, em base seca, de marupazinho (tabela 3) com os dados de cebola crua e em pó (tabela 4), observa-se que os resultados foram semelhantes. Ressalta-se que esse constituinte presente em quantidade considerável nas amostras de marupazinho, pode ser justificado pela presença de amido identificado nos bulbos, nas análises histoquímicas.

Para averiguação da proporção de nutrientes presentes no bulbo do marupazinho, utilizou-se a RDC nº 54/2012 (ANVISA, 2012), que dispões sobre a Informação Nutricional Complementar de alimentos (INC). A referida RDC classifica os alimentos que possuem no máximo 3 g de gorduras totais em 100 g de amostra, como sendo de baixo conteúdo de lipídeos, enquanto alimentos que possuem no máximo 0,5 g de gorduras em 100 g de amostra sólida são atribuídos como "não contém". Diferente das cebolas (Tabela 4), verifica-se que o resultado da composição centesimal obtida no presente estudo, pode-se afirmar que o marupazinho desidratado é um alimento que atende o atributo de baixo "valor energético" (ANVISA, 2012).

As proteínas nos alimentos possuem funções nutricionais importantes, mas também possuem propriedades organolépticas e texturais (EEEP, 2013). Como os seres-humanos degradam diariamente parte delas, e não são capazes de sintetizar aminoácidos essenciais, a ingestão por meio da alimentação se torna necessária (GUYTON, 2006). Ainda analisando a RDC nº 54/2012 (ANVISA, 2012), um alimento só é considerado fonte de proteínas quando possui no mínimo 6 g por 100g de proteína, desta forma o elevado teor desse nutriente, em g/100g ($10{,}38 \pm 0{,}21$), nos bulbos de marupazinho desidratados (Tabela 3), são considerados potencial fonte de proteínas, assim como as cebolas, quando em base seca (Tabela 4).

Representando o conteúdo total de minerais, as cinzas são utilizadas como uma medida geral de qualidade. A quantidade de cinzas é importante para identificação do valor nutricional do alimento, quando o alimento é rico em certos minerais (ZAMBIAZI, 2010). Quando comparado, o marupazinho em base seca com a cebola crua em base seca, em pó (TBCA- USP, 2017) (Tabela 4), verifica-se que foram semelhantes.

5 I CONCLUSÃO

Os estudos morfológicos e anatômicos dos bulbos de *Eleutherine bulbosa* forneceram subsídios importantes para caracterização da espécie, permitindo seu correto reconhecimento, tanto para fins medicinais quanto alimentícios e científicos.

A análise microquímica comprovou seu potencial farmacológico, uma vez que foram evidenciados, fenóis, taninos, flavonóides (antocianidinas, antocianinas e flavanonas), esteroides e triterpenoides, compostos estes que validam suas propriedades antifúngicas, antiparasitárias e antibacterianas.

O estudo histoquímico, além de corroborar com a análise microquímica, demonstrando a presença de taninos, alcaloides e fenóis, detectou também a rica abundância de amido nos bulbos de marupazinho, indicando potencial fonte de energia e baixa presença de lipídeos, o que traz benefícios para a saúde.

Apesar de revelado, por testes químicos, a presença de compostos com potencial efeito antinutricional (taninos), é possível consumir os bulbos após o processo de cozimento, pois, em temperaturas elevadas (acima de 60 ºC), são hidrolisados.

Por se tratar de um trabalho sem dados na literatura sobre composição centesimal, o presente estudo revelou que a espécie, quando desidratada, se constitui uma fonte energética potencial de carboidrato e minerais, mas principalmente, proteínas, o que incentiva a inclusão no cardápio familiar e de restaurantes brasileiros, como uma nova alternativa alimentar.

Assim como outras PANC, marupazinho é facilmente cultivado, pois envolve baixos custos e possui rápida propagação, de forma a ser interessante para escalonamento de produções locais e valorização da biodiversidade.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Y. S. A. P. **Estudo Fitoquímico e Bioatividade de *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb.** 2016. 133 f. Dissertação (Mestrado - Curso de Botânica, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus.

ALONSO, R. J. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS, 1998. 1039 p

ALVES, T. M. A., KLOOS, H. & ZANI, C. L. Eleutherinone, a novel fungitoxic naphthoquinone from *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98 (5). 2003. 709-712.

ANVISA. Agência Vigilância Sanitária. **RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. Brasília, 2012.

BORGES, E. S.; GALUCIO, N.C. R; VEIGA, A.S.S.; BUSMAN, D.V.; LINS, A.B.D.A.; BAHIA, M.O; RISSINO, J.D.; CORRE, R.M.S.; BURBANO, R.M.R.; MARINHO, A.M.R; CASSIQUE, J.V; PERCÁRIO, S.; DOLABELA, M.F. Botanical studies, antimicrobial activity and cytotoxity of *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, e3369119992, 2020

BRASIL(a). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2. 5ª Ed. Brasília, 2010.

BRASIL (b) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Hortaliças não-convencionais: (tradicionais)** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília: MAPA/ ACS, 2010. 52 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: MS, 2006. 148 p..

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal do Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS (RENISUS)**. Brasília: MS; 2009.

BRITO, L. C. **POFITO: Desafios e soluções de um caso de sucesso**. 2016. 88 f. Monografia (Especialização) - Curso de Gestão da Inovação de Medicamentos da Biodiversidade, Instituto de Tecnologia de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Rio de Janeiro, 2016.

CASTAÑEDA, L. M. F. **Antocianinas: o que são? Onde estão? Como atuam?** In: seminário apresentado na disciplina fit00001. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**, vol. 3. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa (PT). 2000. 992 p.

DIAS, D. L. NOVAIS, V. P. SCHMIDT, R. B. CARMAGO, E. E .S. SILVA, F. C. Análise da atividade antibacteriana dos bulbos de *Eleutherine plicata* herb. (Iridaceae). **Brazilian Journal of Surgery And Clinical Research** - BJSCR, Rondônia, v. 23, n. 2, p. 07-11, ago. 2018.

ESCOLA ESTADUAL DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL - EEEP. Secretaria da Educação. **Técnico em Nutrição e Dietética: métodos de análises de alimentos**. Fortaleza/Ceará: Governo do Estado do Ceará, 2013. 103 p.

FERREIRA, M. K. A.; FONTENELLE, R. O. S.; MAGALHÃES, F. E. A.; BANDEIRA, P. N.; S.; MENEZES, J. E. S. A.; DOS SANTOS, H. Potencial Farmacológico de Chalconas: Uma Breve Revisão. **Revista Virtual de Química**, Sobral, v. 10, n. 5, p. 1455-1473, 2018.

FIGUEIREDO, A. C., BARROSO. J. G. PEDRO, J. G., ASCENSÃO, L. **Histoquímica e citoquímica em plantas: Princípios e protocolos**. 1 ed. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007.

FIGUEIREDO, P. **Antinutrientes na alimentação humana**. INUAF, 2015.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana.** 2013. 43 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013..

GUYTON, A. C.; HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. Elsevier Brasil, p. 866, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físico-Químicos para análise de Alimentos**. v. 1, 3 edição. São Paulo: IMESP, 2008.

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. San Francisco, W. H. Freeman, 1962. 408 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New york: McGraw-Hill Book Co. 1940. 523 p.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Editora Plantarum. São Paulo, 2014.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, RJ: EDUR, 1997. 198 p.

LORENZI, H.; MATTOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 1ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MALHEIROS, L. C. S. **Isoeleuterol e Isoeleuterina: Potenciais marcadores químicos da tintura de *Eleutherine plicata* Herb (Iridaceae) e atividades microbiológica e antioxidante**. 2008. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém-Pará, 2008.

MALHEIROS, L. C. S.; MELLO, J. C. P.; BARBOSA, W. L. R. *Eleutherine plicata* - Quinones and Antioxidant Activity. In: Phytochemicals-Isolation, Characterisation and Role in Human Health. Londres: **IntechOpen**, 2015. 322-338.

MANN, L. K. Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development. **Hilgardia**, Berkeley, v.21, n.8, p.195-249. 1952

MARQUES, W. P.G.; ANJOS, T. O.; COSTA, M. N. R. F. Plantas medicinais usadas por comunidades Ribeirinhas do Estuário Amazônico. **Brazilian Journal ff Development**, Curitiba, v. 6, n. 10, 2020. p. 74242-74261.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Edições UFC, Volume 3 de Coleção Ciência. 1988. 126 p.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P e ARAUJO, E. L. Tannis: from chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, n. 5, 2005. p. 892-896.

NIJVELDT, R.J., NOOD, E.V., HOORN D.V., BOELENS P.G., NORREN, K.V., LEEUWEN P.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Cli Nutr**, 74, 2001. p. 418 – 425.

OLIVEIRA, Mariana Amaral. **Estudo de validação da espécie de Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb. (Iridaceae): Aspectos de farmacobotânica, química e biologia**. 2019.. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 140 p.

PADHI, L.; PANDA, S. K. Antibacterial activity of *Eleutherine bulbosa* against multidrug-resistant bacteria. **Journal of Acute Medicine**, India, v. 5, n. 3, set. 2015. p. 53-6. Elsevier BV.

PALHETA, I. C. TAVARES-MARTINS, A.C.C., LUCAS, F.C.A., JARDIM, M.G.A. Ethnobotanical study of medicinal plants in urban home gardens in the city of Abaetetuba, Pará state, Brazil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**.16 (3), 2017. p. 206 - 262.

PARAMITA, S.; NURYANTO, M. K. Anti-inflammatory activity of bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (mill. Urb.)) Ethanol bulb extracts. **Journal of Vocational Health Studies**, India, v. 2, n. 2, 30 nov. 2018. p. 51-55,

PATOčKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine Signification; **Journal of Applied Biomedicine**, 1, 2003. p. 7-12.

PLANTS OF THE WORLD ONLINE (**POWO**). 2019. Disponível em: http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:89940-2. Acesso em: 08 mar. 2021

POZZAN, M. S. V, BRAGA, G. C., SALIBE, A. B. Teores de antocianinas, fenóis totais, taninos e ácido ascórbico em uva 'bordô' sobre diferentes porta-enxertos. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 59, n.5, set/out, 2012. p. 701-708,

RADAELLI, E. R. e P. **Alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde (NUT/FS/UnB – ATAN/DAB/SPS), 2005.

RIGO, N. **Chega de Anonimato**. [Entrevista concedida a] Janice Kiss. Página 22, São Paulo, volume do exemplar, 81, p. 34-39, DEZ 2013/FEV 2014. Disponível em: https://pagina22.com.br/wp-content/uploads/2009/07/Pagina22_Ed81.pdf. Acesso em: 14 maio 2021.

RIGO, N. **Nhambutitana, jabutitana ou marupazinho**. 2011. Disponível em: https://come-se.blogspot.com/2011/01/nhambutitana-jabutitana-ou-marupazinho.html. Acesso em: 14 maio 2021.

ROSADO, E. L.; MONTEIRO, J. B. R. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. **Rev. Nutr**, v. 14, n. 2, 2001. p. 145-152,

SANTOS, R. A. F. **Avaliação das propriedades biológicas dos derivados sintéticos do β-sitosterol e triterpenos.** 2010. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal da Bahia, BA.

SASS, J. S. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: Press Building. 1951. p. 228.

SILVA, J.A. **Obtenção e caracterização do extrato seco por aspersão de *Eleutherine plicata* Herb. Belém**, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFPA. 103 p.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. D. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, 1999. p. 5-19.

SILVEIRA, J. Q. **Biodisponibilidade de flavanonas e atividade antioxidante do suco de laranja fresco versus suco de laranja pasteurizado em humanos saudáveis**. 2014. 104 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2014.

SPISLA, D. L. **Estudo etnofarmacológico de plantas medicinais na comunidade quilombola de João Surá, Adrianópolis – Paraná**. 2017. 89 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Universidade Federal do Paraná., Curitiba, 2017.

SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P. GOSMANN, G. MELLO, J. C. P. MENTZ, L. A. PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre - Florianópolis, 6. ed., Editora da UFRGS. Editora da UFSC, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (Brasil). **Flavonoides e Antocianos: disciplina de farmacognosia** i, UFPR. Disciplina de Farmacognosia I, UFPR. 2009.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (**TACO**). Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA - UNICAMP). 4. ed. rev. e ampl. São Paulo, 2011. 161p.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (**TBCA-USP**). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017.

TEIXEIRA, S. S. **Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos**; 2013. 344 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências na Área de Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013

VIEIRA, A. C. M. CONCEIÇÃO, C. C. N. MOURA, M. R. L. SOARES, N. F. EMÍDIO, R. L. ALMEIDA, T. V. P. A. A. **Manual sobre plantas alimentícias não convencionais**. Rio de Janeiro: Cerceau, 2018. 191 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Regional Office for South-East Asia**. The use of herbal medicines in primary health care**. WHO Regional Office for South-East Asia. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review.** Genebra: WHO, 1998. 45 p.

ZAMBIAZI, R.C. **Análise Físico Química de Alimentos**. Pelotas: Editora Universitária/UFPEL, 202p. 2010.

CAPÍTULO 8

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DOCE DE CUMBARU (*DIPTERYX ALATA VOG.*) ACRESCIDO DE FARINHA DE BAGAÇO DE MALTE

Data de aceite: 01/11/2021

Drielle Suely de Souza Oliveira
Faculdade de Tecnologia SENAI MT – FATEC SENAI MT, Eixo de Produção Alimentícia, Cuiabá-MT

Márcia Helena Scabora
Faculdade de Tecnologia SENAI MT – FATEC SENAI MT, Eixo de Produção Alimentícia, Cuiabá-MT

Daiane Alves Cardoso
Engenheira de Alimentos

Dayane Sandri Stellato
Engenheira de Alimentos

RESUMO: O estudo visa apresentar um doce a base de rapadura de cana-de-açúcar e Cumbaru acrescido de farinha de bagaço de malte. Foram elaboradas 4 formulações, padrão, formulação padrão 1, formulação 2 e formulação 3, e avaliadas as características físico-químicas e microbiológicas. Destaca-se a formulação 2 com percentual de 50,45% a mais de fibra do que o doce tradicional, nos resultados para cor, a formulação padrão 1 obteve resultado maior para L* índice de luminosidade e menor para as formulações com adição de FBM, o índice de a* não houve diferença significativas para os tratamentos, b* o padrão e formulação padrão 1 apresentaram maior valores mais escuros e textura indicou que para o padrão é o maior valor e a formulação 1 menor resultado. Nas análises microbiológicas para Coliformes a 35ºC e a 45ºC, *E. coli*, *Salmonella*, bolor e levedura obtiveram resultados satisfatórios para todas as formulações. Conclui-se que as formulações utilizando a farinha de bagaço de malte com 5% formulação 1, 10% formulação 2 e castanha de Baru, apresentaram resultados superiores para cinzas comparando com às outras formulações que não contém incremento de FBM. Dessa forma o doce pode ser utilizado como substituto dos produtos convencionais.

PALAVRAS-CHAVE: Cumbaru. Farinha de Bagaço de Malte.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF CUMBARU SWEET (*DIPTERYX ALAT VOG.*) ADDED WITH BREWER'S SPENT GRAIN FLOUR

ABSTRACT: The study aims to present a sweet based on sugarcane and Cumbaru brown sugar plus malt bagasse flour. Four formulations were elaborated, standard, standard formulation 1, formulation 2 and formulation 3, and the physicochemical and microbiological characteristics were evaluated. Formulation 2 stands out with a percentage of 50.45% more fiber than the traditional candy, in the results for color, the standard formulation 1 obtained a higher result for L* luminosity index and lower for formulations with the addition of FBM , the a* index was not significantly different for the treatments, b* the standard and standard 1 formulation had higher darker values and texture indicated that for the standard it is the highest value and the lowest result for formulation 1. In microbiological analyzes for Coliforms at 35ºC and 45ºC, *E. coli, Salmonella*, mold and yeast

obtained satisfactory results for all formulations. It is concluded that the formulations using malt pomace flour with 5% formulation 1, 10% formulation 2 and Baru nut, presented superior results for ash compared to other formulations that do not contain FBM increment. Thus, the candy can be used as a substitute for conventional products.
KEYWORDS: Cumbaru. Malt bagasse flour.

1 I INTRODUÇÃO

O Baru é uma castanha típica do bioma Cerrado que apresenta um alto teor de nutrientes, a farinha do bagaço de malte é um resíduo da indústria cervejeira gerado na etapa de fermentação do mostro sendo reconhecida pelo alto teor de fibras e proteína.

O baru possui, além da polpa, a noz que é consumida e apreciada por pequena parte da população. De um modo geral pode-se afirmar que as nozes obtidas dos frutos do Cerrado são relevantes do ponto de vista socioeconômico pela importância como fonte de nutrientes para a população e comunidades. O potencial para o aproveitamento das frutas nativas é imenso, sejam destinadas para polpas, doces, óleos, essências, fibras, usos terapêuticos entre outros (CANDIL *et al.*, 2004). O baru apresenta teores médios de proteína semelhantes aos do amendoim, inferiores aos da castanha de caju, das amêndoas de pequi e da amêndoa-doce, e superiores aos da avelã. É também uma importante fonte de ácidos graxos, sendo os de maior ocorrência o oleico considerado ômega 9 e o ácido linoleico, ômega 6, seguidos pelo ácido palmítico. (LOUREDO, et al., 2014).

No processo de elaboração da cerveja, ocorre o descarte do bagaço de malte sendo atualmente destinado à alimentação animal. A presença de fibras, resíduo de proteínas e açúcares, torna este bagaço com potencial de utilização em produtos elaborados na panificação, como pães e biscoitos, onde o incremento, principalmente em fibras, traz benefícios ao consumidor do ponto de vista nutricional e de funcionalidade (CORDEIRO *et al.*, 2012). Segundo Morado (2017) nesta etapa já foi extraído todos os compostos solúveis utilizados na fabricação e clarificação do mosto doce. Este subproduto é uma massa seca que representa a maior parcela do total dos resíduos gerados cerca de 85%, sendo gerados em grandes quantidades ao longo de todo o ano, o bagaço do malte apresenta um baixo custo e alto valor nutricional.

A rapadura é um produto sólido, de sabor doce, obtido pela concentração quente do caldo da cana-de-açúcar, ela é muito rica em vitaminas e sais minerais como potássio, cálcio, e ferro, além de ter características de produto natural (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O objetivo do trabalho foi desenvolver doce de consumo cotidiano utilizando a rapadura de cana-de-açúcar e Cumbaru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte agregando valor nutricional.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios de Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal, Microbiologia de Alimentos e Laboratório de Análises Físico-químicas da Faculdade de Tecnologia FATEC SENAI Mato Grosso – FATEC SENAI MT.

A castanha de Baru e a rapadura de cana-de-açúcar foram adquiridas no comércio local em Cuiabá, obteve-se o Bagaço de Malte úmido por contribuição de uma indústria cervejeira artesanal, localizada na região de Cuiabá.

O Bagaço de Malte após o seu uso no processamento da cerveja, foi mantido refrigerado até o momento do seu processamento em farinha. Para tanto o Bagaço de Malte foi colocado em bandejas revestida com papel manteiga, com quantidade adequada e homogênea para a secagem completa.

O resíduo de bagaço de malte úmido foi colocado em estufa com circulação de ar em temperatura de 70ºC, até peso constante. Em seguida, o Bagaço seco foi triturado em liquidificador industrial e sua granulometria foi ajustada em peneira granulométrica com abertura de 10,7, posteriormente foi acondicionada em sacos de polietileno, sendo denominado de Farinha de Bagaço de Malte (Figura 1).

Figura 1- Farinha de Bagaço de Malte: triturado e peneirado.

Fonte: Autora, 2018.

As castanhas de Cumbaru foram adquiridas no comércio local, posteriormente a sua aquisição foram torradas e, logo após foi realizado o processo de fragmentação em liquidificar e conservadas em recipientes de vidro, conforme visualizado na Figura 3 a castanha do Baru.

Figura 2 - Castanha de Cumbaru torrada.

Fonte: Autora, 2018.

A rapadura de cana-de-açúcar foi adquirida no comércio local de Cuiabá, e no laboratório de Processamento Vegetal foi retalhada em partes menores, para melhor dissolução no momento do processamento (Figura 3).

Figura 3 - Rapadura em processo.

Fonte: Autora, 2018.

Na preparação do doce de Baru, acrescido de Farinha de Bagaço de Malte, foram efetuados estudos e testes para chegar à formulação padrão. Os testes executados utilizaram o percentual de Farinha de Bagaço de Malte, de 5% e 10%, conforme apresentado na Tabela 1 para a formulação do doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte.

INGREDIENTES	QUANTIDADE(g)*			
	Formulação Padrão (0% FBM)	**Formulação Padrão 1 (0% FBM)**	**Formulação 2**	**Formulação 3**
	Rapadura de cana-de-açúcar 50%, Castanha de Cumbaru 50%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 40%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 35% e FBM 5%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 30% e FBM 10%.
Rapadura de cana-de-açúcar	250 G	300 G	300 G	300 G
Castanha de Cumbaru	250 G	200 G	170 G	150 G
Farinha de bagaço de Malte	-	-	30 G	50 G

Tabela 1 - Formulação do Doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte (FBM).

*Formulação para 500 G de doce.

Após a pesagem dos produtos, foi adicionada a rapadura de cana-de-açúcar numa travessa de vidro e aquecida em micro-ondas por 3,5 minutos, após o aquecimento está foi homogeneizada até completa dissolução (Figura 4).

Figura 5 – Etapa de pesagem dos ingredientes.

Fonte: Autora, 2018.

Realizado a mistura da rapadura com o Baru e a Farinha de Bagaço de Malte a mistura foi homogeneizada por 2 minutos. A massa obtida foi distribuída em formas plásticas previamente untadas com óleo de Girassol (Figura 5).

Figura 5 - Etapa do processo homogeneizada dos ingredientes.

Fonte: Autora, 2018.

Os doces foram mantidos em temperatura ambiente por um período de repouso de 15 minutos para endurecimento. Posteriormente, os doces foram retirados da forma e divididos em porções pequenas (Figura 6).

Figura 6 - Etapa do processo de corte.

Fonte: Autora, 2018.

O produto final foi armazenado em local limpo, livre de umidade e em temperatura ambiente, até a realização das análises microbiológicas e físico-químicas. O fluxograma do processamento do doce de Baru acrescido FBM, apresentado na Figura 7.

Figura 8- Fluxograma do Processamento do Doce de Cumbaru.

Fonte: Autora, 2018.

As análises microbiológicas foram realizadas mediante os métodos analíticos oficiais segundo metodologia descrita por Silva *et al*. (2007) e os resultados foram analisados conforme RDC nº 12 de 2001.

Para fazer a diluição das amostras, mediu-se em proveta 25 mL de cada amostra e adicionou-se 225 mL da solução diluente água peptonada 0,1% estéril. Foi homogeneizado por 60 segundos em stomacher. Essa foi à diluição 10^{-1}, a seguir, foram preparadas diluições decimais 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} e 10^{-5}.

A prova presuntiva tem como objetivo avaliar se há presença de coliformes. Para a análise inoculou-se 1 mL de cada amostra para uma série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubos de Durhan invertidos, incubou-os em estufa a 35ºC por 24 e 48 horas. A presença de coliformes é evidenciada quando há formação de gás nos tubos de Durhan.

A prova confirmativa tem como objetivo a confirmação de coliformes a 35ºC e 45ºC nas amostras. Para confirmação de coliformes a 35ºC inoculou-se 1 mL dos tubos positivos e adicionou em tubos contendo caldo verde brilhante bile lactose (VBB) 2% com tubos de Durhan invertidos e incubou-os em 35ºC por 24 e 48 horas. Para a confirmação de coliforme a 45ºC inoculou-se 1 mL da amostra positiva em tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de Durhan invertidos e incubou a 45ºC por 24 a 48 horas em banho-maria com agitação.

Para a pesquisa de *Salmonella*, realizou-se o pré-enriquecimento das amostras em água peptonada 0,1% por 6 horas a temperatura ambiente. Após incubou-se a 37ºC por 18 horas. Após transcorrido o período de incubação pipetou-se 2 mL de cada amostra e transferiu para o caldo Selenito Cistina e caldo Rappaport-Vassiliadis e incubou-se a uma

temperatura de 37ºC por 24 horas. Após a incubação foram realizados plaqueamentos por semeadura em Agar verde brilhante e incubadas a 37ºC por 24 horas. Após o período de incubação, foi realizada a triagem das colônias positivas, as quais foram plaqueadas utilizando meio TSI, segundo metodologia de Silva; Junqueira e Silveira (2001) caso houvesse colônias suspeitas as amostras seriam submetidas a testes bioquímicos.

Assepticamente, alíquotas de 25g de cada amostra foram diluídas em 225 mL de água peptonada estéril a 0,1%, resultando na diluição 10-1. Em seguida, foram realizadas diluições em série até 10-5. Um volume de 0,1 mL de cada diluição foi plaqueado em meio Ágar Dextrose Batata (BDA) acidificado com ácido tártárico 10% e incubados a 27°C durante 5 a 8 dias, de acordo com Silva et al. (2006). As análises foram realizadas em duplicata.

A determinação da análise de pH possui como objetivo determinar as condições ácidas ou básicas do meio através da concentração efetiva dos íons hidrogênio, como indicativo de deterioração microbiana. Para a análise, retirou-se alíquotas de 50 mL de cada amostra em Becker de 100 mL. Os valores de pH foram medidos nos produtos acabados, através da inserção de eletrodo combinado tipo penetração previamente calibrados com soluções tampão 4 e 7 e as análises realizadas com quatro repetições por tratamento (IAL, 2008).

Para a análise de umidade foram pesadas de 2 g da amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada, aquecida durante 3 horas e resfriada em dessecador até a temperatura ambiente. Em seguida foi pesada e a operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante e as análises realizadas com quatro repetições por tratamento (IAL, 2008).

Foram pesados 5 g de cada tratamento e 4 repetições por amostra em uma cápsula, previamente aquecida em mufla a 550°C, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Em seguida foi pesada e a operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até peso constante e as análises realizadas com quatro repetições por tratamento (IAL, 2008).

A cor é um importante atributo de qualidade, um dos aspectos de qualidade que estão relacionados à qualidade e ao grau de frescor do alimento (RAMOS; GOMIDE, 2012). A determinação de cor objetiva foi realizada pelo sistema CIEL*a*b*, o iluminante D65, 10° para o observador padrão e componente especular excluído (SCE), usando o equipamento Minolta CM-700D, calibrado para um padrão branco. Três leituras foram realizadas por tratamento e cada leitura era expressa pela média de três leituras.

Para a realização da determinação do Perfil de Textura pela força de cisalhamento desta análise, as amostras passaram pelo processo de cocção, foram resfriadas, cortadas e sua textura foi medida em triplicata utilizando um texturômetro TA. XT. Plus Texture Analyser, auxiliado pelo software XTRAD, acoplado a uma lâmina tipo Warner-Bratzler, sendo a amostra cisalhada, transversalmente.

Os dados quantitativos foram avaliados por meio de análise de variância e teste de comparação de médias, após verificação dos pressupostos lineariedade (inspeção visual), normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett). Quando estes apresentaram distribuição paramétrica, foram utilizados ANOVA e teste de Tukey utilizando o software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para as analises de cinzas, umidade, pH, textura e os parâmetros de cor (L*, a*, b*) para o doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte estão apresentados na tabela 2.

Tratamentos	Cor						
	L*	a*	b*	Textura	Cinzas	Umidade	pH
				Kgf	%	%	
Formulação Padrão	49,57b	9,64a	27,82a	8,63a	1,36d	4,65d	6,06a
Formulação 1	52,95a	9,93a	29,33a	6,74c	1,68c	6,80c	6,14a
Formulação 2	43,41c	9,25a	24,15b	5,19d	1,87b	7,74b	5,58b
Formulação 3	42,92c	9,16a	23,62b	7,70b	2,17a	8,78a	5,56b
Probabilidade de F	71,36*	0,38	23,28*	6,47*	0,34	9,27*	0,28*
CV (%)	3,76	6,78	5,33	5,86	3,08	2,87	1,21
TBCA 2017 (pé de moleque)	----	----	----	----	1,15	2,91	----

Tabela 2 - Médias e Coeficiente de Variação (CV) para as características físico-químicas do Doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte – FBM.

Letras iguais na coluna indicam que não houve diferença estatística significativa a 5% de Probabilidade pelo teste de Tukey. Padrões de Cor: L* índice de luminosidade; a* índice de vermelho; b* índice de amarelo.

Para o parâmetro L* foram detectadas diferenças estatísticas significativas ($p<0,05$) para o tratamento controle com 40% de castanha de Baru, sendo os tratamentos desenvolvidos com Farinha de Bagaço de Malte os que apresentaram os menores valores para L*.

O índice L* refere-se à claridade do produto que vai de 0 (totalmente escura) a 100 (totalmente claro), desta forma, os valores variaram de 52,95 a 42,92, sendo o tratamento com Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Baru 30% e FBM 10% o que apresentou o menor valor, respectivamente. Fica evidente que o índice de L* aumenta com a incorporação da Farinha de Bagaço de Malte.

O índice a*, referente à cor vermelha (+), e observa-se que não houve diferenças

estatísticas significativas para os tratamentos desenvolvidos. Já em relação ao índice de amarelo (b*) foram observadas diferenças estatísticas significativas, sendo que as formulações de doce com 50% de Rapadura de cana-de-açúcar e Castanha de Baru, e 60% de Rapadura de cana-de-açúcar e 40% de castanha de Baru apresentaram os maiores valores, apresentando amostras mais escuras.

Resultados semelhantes foram observados por Panzarini et al. (2014) que elaboraram um bolo de mel enriquecido com fibras do bagaço da indústria cervejeira, e verificaram que os resultados de cor nas duas formulações desenvolvidas (7% e 10%) de bagaço de malte apresentaram nas regiões vermelha e amarelo.

Para a análise de textura foram detectadas diferenças estatísticas significativas, sendo a formulação com 50% de Rapadura de cana-de-açúcar e Castanha de Baru a com o maior valor de textura e a formulação do doce de Baru com 60% de Rapadura de cana-de-açúcar, 35% de Castanha de Baru 5% de FBM a que apresentou o menor valor para textura.

Bieli et al. (2015) incorporaram Farinha de Bagaço de Malte (até 15%) em snacks extrusados apresentou um efeito de alteração na textura, entretanto, não houve alteração no índice de expansão, desta forma, o produto se apresentou adequado ao padrão existente no mercado, apresentando as vantagens da incorporação de fibras ao produto final e o aproveitamento de um resíduo agroindustrial, podendo contribuir para a redução de resíduos gerados por cervejarias.

Para as análises de cinzas e umidade foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p<0,05$). Onde a formulação com 60% de Rapadura de cana-de-açúcar, 30% de Castanha de Baru e 10% FBM apresentaram os maiores valores. E a formulação com 50% de Rapadura de cana-de-açúcar e 50% de Castanha de Baru apresentou os menores valores.

Os maiores valores de pH foram observados para a formulação do doce com 60% de Rapadura de cana-de-açúcar e Castanha de Baru 40% e para a formulação com 50% de Rapadura de cana-de-açúcar e 50% de Castanha de Baru.

O teor de cinzas quando comparado ao doce de Pé-de-moleque é superior, a formulação 2 (Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Baru 35% e FBM 5%) apresenta 50,45% a mais de fibra do que doce convencionalmente consumido. A umidade apresentou-se superior, em todas as formulações, se comparado ao Pé-de-moleque, desse modo os doces apresentados terão menor vida de prateleira, sendo a formulação padrão apresentou a mais indicada para comercialização.

Silva et. al, (2016) elaboraram um biscoito tipo cookie a base de bagaço de cerveja e saborizado com amêndoa do baru e na sua elaboração foi adicionado 10,05% de bagaço de cerveja e depois da massa pronta 10% de cumbaru, e apresentou como um produto diferenciado no mercado alimentício, com alto valor nutricional e com apelo funcional, devido ao seu elevado teor de fibras, resultados esses semelhantes aos do presente

trabalho.

Mattos (2010) avaliaram a potencialidade do uso do bagaço de malte como alimento humano e sua incorporação nas características sensoriais no pão de forma com 30% de bagaço de malte sobre o peso da farinha de trigo, apresentaram 4,51 gramas de fibra para 100 gramas do produto final, caracterizando-se um alimento de fibra alimentar.

Panzarini et al. (2014) elaboraram um bolo de mel enriquecido com fibras do bagaço da indústria cervejeira, e verificaram a diferença entre as amostras no teor de umidade, cinzas e fibras, constataram uma quantidade maior em teor de umidade no bolo elaborado com maior porcentagem do bagaço (10,5%), com mais fibra alimentar, o que se explica pela propriedade das fibras de reterem e manterem água em sua estrutura durante o processo de cozimento.

Diante do doce de Baru acrescido de FBM, para as formulações estudadas, constata-se que apresentaram teor de cinza superior às demais formulações, confirmando a maior quantidade de fibras, com valores maiores valores de cinzas aos encontrados para pé-de-moleque pela Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos – TBCA. Em contrapartida também apresentaram os maiores valores para umidade, o que pode reduzir o tempo de prateleira do produto final. Resultados esses para umidade que ficaram acima dos determinados para pé-de-moleque pela Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos.

Segundo Freitas; Naves (2010) a semente de Baru constitui boa fonte de fibras alimentares, com predominância de fibras insolúveis. Teores consideráveis de fibras insolúveis contribuem para o aumento do bolo fecal e prevenção de problemas intestinais, valorizando ainda mais esses alimentos na promoção da saúde.

Observa-se na Tabela 3 que as amostras para as formulações de doce de Baru analisadas estavam em de acordo com os parâmetros da Resolução RDC nº 12/ 2001, ANVISA/MS (BRASIL, 2001), quanto aos padrões microbiológicos mínimos tolerados para Coliformes a 45°C.

Parâmetros	**Composições CV (%)**				
	Formulação Padrão	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3	**Parâmetros - RDC 12 de 2001**
Coliformes 35ºC *(NMP/g^{-1})	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	**------**
Coliformes 45ºC* (NMP/g^{-1})	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	10^2
***E. coli* * (NMP/g^{-1})**	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	10^2

Tabela 3 - Análises microbiológicas para Coliformes a 35ºC, Coliformes a 45º e *E. coli* para Doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte (FBM).

*NMP= Número Mais Provável.

Os resultados das amostras avaliadas para *Salmonella*, contagem de Bolores

e Leveduras e *S. aureus* encontram-se descritos na Tabela 4, com a comparação dos resultados obtidos nas amostras com padrões nacionais de controle.

Microrganismos (*UFC/g^{-1})	Composições CV (%)				
	Rapadura de cana-de-açúcar 50%, Castanha de Cumbaru 50%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 40%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 35% e FBM 5%.	Rapadura de cana-de-açúcar 60%, Castanha de Cumbaru 30% e FBM 10%.	**Parâmetros RDC 12 de 2001**
***Salmonella* sp.**	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Bolores	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	--------
Leveduras	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	--------

Tabela 4 - Análises microbiológicas para o Doce de Baru acrescido de Farinha de Bagaço de Malte (FBM).

*UFC=Unidades Formadora de Colônias.

Conforme Arendt et al. (2002), devido aos produtos isentos de glúten não possuírem sabor, textura e qualidade igual aos produtos elaborados com farinha de trigo, muitos estudos estão sendo realizados para avaliar novos ingredientes e suas proporções, que terão como função melhorar as características sensoriais desses produtos. Sendo assim, as indústrias alimentícias e estabelecimentos comerciais poderão atender especialmente ao público com restrições alimentares como, por exemplo, os celíacos.

Assim, a composição similar da amêndoa de Baru, do amendoim, da castanha-de-caju e da castanha-do-Brasil reforça o uso potencial da amêndoa de Baru como substituinte ou associada a esses alimentos em diversas preparações culinárias como bolos, paçocas e biscoitos, bem como em formulações industrializadas, enriquecendo o valor nutricional desses alimentos. Dessa forma, o estímulo ao consumo dessa amêndoa pode contribuir para a garantia da segurança alimentar e nutricional, especialmente da população regional (FREITAS, 2009).

4 I CONCLUSÃO

Conclui-se que as formulações utilizando a farinha de bagaço de malte com 5% formulação 1, 10% formulação 2 e castanha de Baru, apresentaram resultados superiores para cinzas comparando com às outras formulações que não contém incremento de FBM.

Sendo que formulação padrão é indicada para comercialização porque apresenta menor percentual de umidade, ou seja, maior vida útil de prateleira, a formulação padrão e formulação padrão 1 demostrou resultados de pH mais próximo de neutro e a formulação1 e formulação 2 com resultado mais para ácida, contudo, todas as formulações demostraram livre de contaminação microbiológica, tornando um produto adequado para o consumo.

Dessa forma o doce pode ser utilizado como substituto dos produtos convencionais, em virtude do seu alto valor nutricional destacando-se pela concentração de fibras. Ou seja, o produto possui um grande potencial de mercado para atender a demanda de pessoas que buscam uma alimentação mais saudável.

REFERÊNCIAS

FERREIRA, Daniel Furtado. **Sisvar**: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciênc. agrotec. [online]. vol.38, n.2, 2014.

FORSYTHE, Stephen J**. Microbiologia da segurança dos alimentos**. Artmed Editora, 2013. Freitas JB, Naves MMV. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. Revista de Nutrição 2010; 23(2):269-79.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

LOUREDO, G. E et al., **Biscoito tipo cookie enriquecido com baru**, Revista Faculdade Montes Belos., v. 7, n° 1, 2014, p (16-25), 2014. Disponível em: <revista.fmb.edu.br/index.php/fmb/article/viewFile/140/134>. Acesso em 28 de abr, 2018.

MELO B. D. G.; FRANCO, M. L. **Microbiologia** de Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

MORADO, Ronaldo**. Larousse da Cerveja**. São Paulo: Alaúde, 2017. 440 p.

PIETROWSKI, G. A. M.; OTT, A. P.; SIQUEIRA, C. R.; SILVEIRA, F. J.; BAYER, K. H.; CARVALHO, T. **Avaliação da qualidade microbiológica de leite pasteurizado Tipo C comercializado na cidade de Ponta Grossa-PR**. In: SEMANA DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS, 6. In: Anais... Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Campus Ponta Grossa - Paraná – Brasil, v. 02, n. 36, 2008.

RAMOS, EM; GOMIDE, LAM**. Avaliação da qualidade de carnes**: fundamentos e metodologias. Viçosa: Editora UFV, 1ª Edição, 2012, 599p.

ROCHA, Danielly Santos; REED, Elaine. **Pigmentos Naturais em Alimentos e sua Importância para a Saúde**. Estudos, v. 41, n. 1, p. 76-85, 2014.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. **Avaliação do padrão coliformes a 45ºC e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em alimentos**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 2, p. 352-9, 2006.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. 159p.
STEFANELLO, Flávia Santi, Et Al. Resíduo de Cervejaria: bioatividade dos compostos fenólicos; aplicabilidade na nutrição animal e em alimentos funcionais. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 18, p. 01-10. mai. 2014.

TOGASHI, M. & V.C. SGARBIERI. 1995. **Avaliação nutricional da proteína e do óleo de sementes de baru (Dypterix alata Vog.)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, V.15, n 1, p 66-69.

VALSECHI, Octávio Antônio. **Microbiologia dos alimentos**. Universidade federal de São Carlos Centro de Ciências Agrárias, departamento de tecnologia agroindustrial e socioeconômica rural. Araras, São Paulo, 2006.

ZIMERMAN, M. **pH de La carne y factores que lo afectan**. 2010. Disponível em http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_ovina/produccion ovina_carne/146-carne.pdf Acesso em 20 de junho de 2018.

CAPÍTULO 9

EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*CYMBOPOGON CITRATUS* (D. C.) STAPF) POR HIDRODESTILAÇÃO

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 27/10/2021

Marilia Assunta Sfredo
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) *Campus* Erechim, Curso de Engenharia de Alimentos, Erechim/RS
http://lattes.cnpq.br/8039403828094479

Carina Tasso
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) *Campus* Erechim, Curso de Engenharia de Alimentos, Erechim/RS
http://lattes.cnpq.br/3712326093612180

Daniele Bergmeier
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) *Campus* Erechim, Curso de Engenharia de Alimentos, Erechim/RS
http://lattes.cnpq.br/0232105381075375

Cristiane Reinaldo Lisboa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) *Campus* Erechim, Curso de Engenharia de Alimentos, Erechim/RS
http://lattes.cnpq.br/9259059697485499

José Roberto Delalibera Finzer
Universidade de Uberaba (UNIUBE), Departamento de Engenharia Química, Uberaba/MG http://lattes.cnpq.br/3768604935693672

RESUMO: Em diversos sistemas *in vitro* e *in vivo*, extratos de capim limão ou seus compostos específicos como o citral, beta-mirceno e geraniol, têm apresentado atividade antimutagênica, antioxidante e anticarcinogênica, o que denota sua importância como fonte de pesquisa. Além disso, o óleo essencial é utilizado na aromatização de alimentos, na indústria de perfumes e cosméticos e na produção da vitamina A. Nesse contexto, justifica-se o estudo da extração de óleo do capim-limão, uma vez que dados sobre rendimento de extração em diferentes tempos são raros. Para isso, o vegetal foi coletado manualmente e submetido à extração pelo método de hidrodestilação no aparelho Clevenger, acoplado a um balão de 1000 mL, disposto sobre uma manta de aquecimento. Utilizou-se 150 g de folhas de capim limão frescas e trituradas (1,5 cm de comprimento) em 500 mL de água. O tempo de extração foi estabelecido em 40 min (contabilizado após condensar a primeira gota de vapor), com paradas para leitura do volume de óleo a cada 5 minutos. Após 20 min, a quantidade de óleo extraída estabilizou em todos os experimentos. Foram testados experimentos com folhas jovens e folhas que sofreram danos pelo frio e com e sem preparo da amostra sob maceração. A etapa de maceração aumentou o volume de óleo extraído apenas para folhas de capim-limão com conteúdo de umidade mais alto, ou seja, com menor encolhimento e menos danos celulares. Para todas as amostras das folhas jovens, o volume de óleo essencial extraído foi superior ao extraído das folhas mais velhas e que sofreram danos pelo frio. Conclui-

se que é possível o cultivo do capim-limão em regiões mais frias para extração de óleo, como forma de diversificação de atividades pelos produtores rurais, mas como uma cultura sazonal, que diminui ou cessa a produção no período do inverno.
PALAVRAS-CHAVE: Essência, destilação, citral.

EXTRACTION OF LEMONGRASS (*CYMBOPOGON CITRATUS* (D. C.) STAPF) ESSENTIAL OIL BY HYDRODISTILLATION

ABSTRACT: In several in vitro and in vivo systems, lemongrass extracts or its specific compounds such as citral, beta-myrcene and geraniol, have shown antimutagenic, antioxidant and anticarcinogenic activity, which denotes its importance as a source of research. In addition, the essential oil is used in the flavoring of foods, in the perfume and cosmetics industry and in the production of vitamin A. In this context, the study of lemongrass oil extraction is justified, since data on the yield of extraction at different times is rare. For this, the vegetable was collected manually and submitted to extraction using the hydrodistillation method in a Clevenger device, coupled to a 1000 mL balloon, placed on a heating mantle. 150 g of fresh and crushed lemongrass leaves (1.5 cm long) in 500 mL of water were used. The extraction time was set at 40 minutes (counted after condensing the first drop of steam), with stops to read the oil volume every 5 minutes. After 20 minutes, the amount of oil extracted stabilized in all experiments. Experiments were tested with young leaves and leaves that were damaged by cold and with and without sample preparation under maceration. The maceration step increased the volume of oil extracted only for lemongrass leaves with higher moisture content, that is, with less shrinkage and less cellular damage. For all samples of young leaves, the volume of essential oil extracted was higher than that extracted from older leaves that suffered damage by cold. It is concluded that it is possible to grow lemongrass in colder regions for oil extraction, as a way of diversifying activities by small farmers, but as a seasonal crop, which decreases or ceases production in the coldest season.
KEYWORDS: Scent, distillation, citral.

1 I INTRODUÇÃO

Óleos essenciais ou óleos voláteis são definidos como óleos que evaporam à temperatura ambiente sem deixar resíduo, sendo obtidos por processos físicos, a partir de vegetais. Esses óleos são constituídos por misturas complexas de substâncias de baixa massa molecular, que determinam seu odor (BRASIL, 2019) e que têm uma alta pressão de vapor ou uma alta volatilidade nas condições normais de pressão e temperatura (REHMAN et al., 2016), por isso o caráter odorífero a que a literatura se refere. Os óleos essenciais são um grupo diversificado de compostos aromáticos naturais, isolados principalmente de materiais vegetais não lenhosos (MAJEED et al., 2015) e obtidos industrialmente por hidrodestilação, arraste a vapor ou processos mecânicos, como a prensagem (DO et al., 2015). Os óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis naturais complexos, caracterizados por dois ou três componentes principais em concentrações bastante altas (20 a 70%) quando comparadas a outros componentes presentes em quantidades muito

pequenas, traços. Esses compostos são terpenóides, especialmente monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}) e diterpenos (C_{20}), juntamente com uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos (baixo peso molecular), ácidos, álcoois, aldeídos e ésteres (MAJEED et al., 2015).

Os óleos essenciais apresentam produtos bioativos com características antioxidantes e antimicrobianas. Esses óleos são usados como agentes desinfetantes, relaxantes, anti-inflamatórios, antimutagênicos e estimulantes. Os compostos têm um enorme potencial na medicina clínica, utilizados até mesmo contra células leucêmicas. A composição química desses compostos varia amplamente com base em seus locais geográficos, endófitos bacterianos, locais botânicos, genética e métodos de extração (DUBEY et al., 1997; GOMES; NEGRELLE, 2003; ZION MARKET RESEARCH, 2020).

Alguns autores preferem diferenciar os termos: essência da planta e o óleo essencial. A essência de planta é um termo que corresponde ao natural com secreções produzidas na planta por células secretoras especializadas. Óleo essencial refere-se ao extrato obtido por vapor ou hidrodestilação, o que significa que os óleos essenciais são a essência destilada da planta. Neste sentido, tem-se se como exemplo, o extrato obtido a partir das raspas de frutas cítricas por expressão a frio sendo essência da planta, mas o obtido por destilação a vapor é o óleo essencial. Os diferentes tecidos especializados no armazenamento e acúmulo de óleos essenciais oferecem uma proteção para esses frágeis produtos contra fatores externos (luz, calor, umidade e oxidação), aos quais são vulneráveis (EL ASBAHANI et al.,2015).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais ao lado da Índia, China e Indonésia, sendo considerado um dos quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se, basicamente, aos óleos essenciais cítricos, obtidos como subprodutos da indústria de sucos. Conforme a Sociedade Nacional de Agricultura, existem muitas oportunidades de mercado no Brasil, devido a biodiversidade dos recursos naturais, uma economia estável e centros de pesquisa especializados (SILVA et al., 2020). Como o rendimento da extração dos óleos essenciais é muito baixo (em torno de 1%), esses produtos se tornam substâncias raras e altamente valiosas, inclusive porque apenas 10% do total de espécies de plantas encontradas no planeta (mais de 17.000 espécies) contém óleo essencial e são consideradas plantas aromáticas (cerca de 1.700 espécies). Os gêneros de plantas que podem conter óleo essencial são classificados em um pequeno número de famílias: *Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae e Piperaceae* (EL ASBAHANI et al., 2015).

O capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf), pertencente à família das *Poaceae*, e uma planta aromática cultivada para produção comercial de óleo essencial, o qual geralmente apresenta como constituintes majoritários os monoterpenos citral (mistura isomérica de neral e geranial) e o mirceno (GUIMARÃES et al., 2011). A espécie *C. citratus* é conhecida nacionalmente como capim-limão, capim-cidreira, capim-santo ou capim-cidrão e internacionalmente como *lemongrass* (SANTOS et al., 2009). É muito empregado

como aromatizante em perfumaria e cosmética, na preparação de colônias, sabonetes e desodorantes. Porém, seu maior emprego tem sido na indústria farmacêutica, servindo de material de partida para síntese de importantes compostos como iononas, metil-iononas e vitamina A (GUIMARÃES et al., 2011). As atividades antimicrobianas e antifúngicas do citral foram comprovadas em 22 espécies de microrganismos, além da propriedade inseticida, principalmente larvicida, bem como, repelente de insetos (COSTA et al., 2005). Villaverde e seus colaboradores (2013) reportaram que em diversos sistemas *in vitro* e *in vivo*, extratos de capim-limão ou seus compostos específicos (ex. citral, mirceno e geraniol) têm apresentado atividade antimutagênica, antioxidante e anticarcinogênica. Citral, principal componente do capim limão, foi reconhecido como um aditivo seguro, sem riscos à saúde do consumidor, sendo aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em alimentos e registrado como aromatizante pela Comissão Europeia (AJAYI et al., 2016; PRAKASH et al., 2015).

Vallilo e colaboradores (2008) reportam que a composição química do óleo volátil extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, clima e solo. Além disso, o método de extração também pode influenciar no rendimento e qualidade do óleo essencial obtido. Nos experimentos laboratoriais a extração do óleo essencial é comumente realizada por hidrodestilação pelo uso do aparelho Clevenger. Na indústria, o principal método é a extração por arraste a vapor. As condições ótimas para o desenvolvimento de *C. citratus* são calor e clima úmido com plena exposição solar e chuva de 2.500–2.800 mm ao ano, uniformemente distribuídas. A melhor adaptação se encontra nas zonas onde a temperatura média mensal é de 24-26° C, valores de temperatura acima de 35° C afetam seu crescimento, sobretudo quando o fornecimento hídrico é deficiente (GOMES; NEGRELLE, 2003).

Devido a sua natureza hidrofóbica e sua densidade muitas vezes menor do que a da água, geralmente os óleos essenciais são solúveis em solventes orgânicos e imiscíveis em água. Assim, um óleo essencial é geralmente separado da fase aquosa por um método físico que não causa mudanças significativas em sua composição química (EL ASBAHANI et al., 2015). A extração de qualquer composto a partir de uma matriz sólida necessita de duas etapas: inicialmente o composto deve ser desorvido a partir do seu local de ligação e da matriz, e após, o composto deve ser eluído a partir da amostra de uma maneira análoga à cromatografia de eluição frontal, a qual é controlada pelo coeficiente de partição termodinâmico (KUBÁTOVÁ et al., 2002). Industrialmente, para que ocorram esses dois passos na extração de óleos essenciais de plantas aromáticas são utilizados principalmente dois processos, os quais são mundialmente conhecidos e difundidos: a hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor.

2 | DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE ÓLEO ESSENCIAL

Para determinar o teor total de óleo essencial contido no capim-limão, realizou-se a

coleta das folhas de forma manual, entre os meses de agosto e outubro de 2018, no interior do Município de Viadutos/RS, cuja localização geográfica é paralelo -27°34’36,60” de latitude Sul e meridiano -51°58’45,00” de Longitude Oeste. Segundo Rebonatto (2014), no Município de Viadutos/RS as altitudes variam de 450 aos 850 metros acima do nível do mar, o clima predominante é do tipo Cfb, considerado frio de acordo com a classificação Koppen, com temperaturas médias anuais de 18°C e a média do mês mais quente (janeiro) está compreendida entre 18°C e 22°C. Referente à umidade relativa do ar, a cidade caracteriza-se com um ambiente sempre úmido, com médias anuais de 78%. A vegetação do município é denominada Estepe e os solos fazem parte de um grande complexo geológico brasileiro denominado ‘terra-roxa’, que é composto pela terra escura e avermelhada, apresentando forma lamacenta e pegajosa. Segundo Santos e colaboradores (2009), o capim-limão está aclimatado nas regiões tropicais do Brasil e não suporta região muito fria, sujeita à geada, porém rebrota na primavera, pois é muito resistente às variações do solo e clima. As condições climáticas ideais para o seu desenvolvimento são calor e clima úmido, com plena exposição solar e chuvas uniformemente distribuídas.

As folhas coletadas no período do inverno, nos meses de agosto e setembro de 2018, apresentavam-se com partes de cor marrom, de aspecto seco, sendo provavelmente um dano causado pelo frio, como mostra a Figura 1. Já as folhas colhidas no mês de outubro de 2018, período da primavera, estavam verdes, com cor característica de folhas brotadas recentemente.

Figura 1: Comparação entre as folhas de capim-limão marrons (à esquerda) e verdes (à direita).

Fonte: Os autores (2018).

Antes da determinação do teor total de óleo essencial nas folhas de capim-limão com pontas marrons e das folhas verdes, é imprescindível quantificar a umidade das folhas para expressar os resultados em base seca. A determinação da umidade da folha de capim-limão foi realizada em balança determinadora de umidade da marca Marte, modelo ID50, com precisão de 0,001 g. O procedimento foi efetuado em triplicata, onde cerca de 3 g de folhas foram trituradas em aproximadamente 1,50 cm de comprimento e dispostas na balança. Os resultados estão indicados na Tabela 1.

A quantificação do teor total de óleos essenciais contidos nas folhas de capim-limão foi realizada conforme método descrito em Brasil (2010a, p. 198) e os experimentos foram efetuados em triplicata, tanto para as folhas marrons quanto para as verdes. As folhas foram secas naturalmente, na sombra, por mais de duas semanas antes da extração do óleo, como determina Brasil (2010a). Os resultados para os teores de umidade final das folhas secas a sombra estão mostrados na Tabela 1.

Antes de iniciar a destilação para extração do óleo essencial o aparelho tipo Clevenger foi limpo por sucessivas lavagens com acetona, solução de KOH (5% em etanol), solução de HCl (0,01M) e água destilada. Para cada experimento foi adotado o mesmo procedimento de limpeza do equipamento de extração para garantir a completa remoção do óleo essencial e de outros contaminantes que podem ficar retidos nas paredes dos equipamentos utilizados, comprometendo assim a precisão da quantificação do óleo essencial.

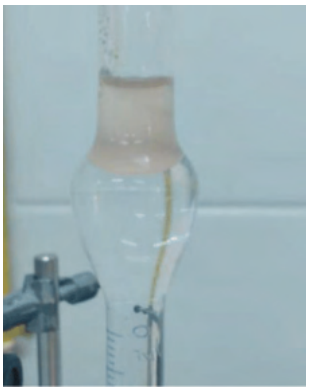
A extração de todo óleo volátil presente na matriz vegetal foi realizada por hidrodestilação, durante 4 horas, utilizando-se o aparelho do tipo Clevenger, acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL disposto sobre uma manta de aquecimento. O método para quantificação do óleo essencial do capim-limão está descrito nas monografias apresentadas em Brasil (2010b). Os resultados estão indicados na Tabela 1.

Exp.	$\bar{U}$ (%)	$\bar{X}$ (kg de água/ kg matéria seca)	σ_x (kg de água/ kg matéria seca)	Teor de óleo essencial (mL/100 g matéria seca)	Teor médio (mL/100 g matéria seca)	σ_{oe} (mL/100 g matéria seca)
Folhas marrons						
1	19,849	0,248	0,008	1,50	1,55	0,34
2	11,867	0,135	0,001	1,25		
3	11,288	0,127	0,008	1,92		
Folhas verdes						
1	10,924	0,123	0,023	1,80	1,84	0,18
2	11,239	0,127	0,001	1,69		
3	11,657	0,132	0,006	2,04		

Tabela 1: Conteúdo de umidade e teor total de óleo essencial das folhas de capim-limão.

Os dados da Tabela 1 mostram que o teor total de óleo essencial das folhas de capim-limão verdes é 15,36% maior do que nas folhas marrons, que sofreram o ataque do frio. Além da quantidade menor de óleo essencial, a composição química provavelmente também foi alterada em função da obtenção de um óleo de cor laranja, bem distinto da coloração amarela clara, característica do óleo de capim-limão. Assim, para recomendar a utilização do óleo essencial de capim-limão obtido com folhas marrons é necessário determinar previamente sua composição química, a fim de comprovar se não há formação de compostos indesejáveis no óleo, gerados a partir de processos oxidativos ou de outra natureza.

A Figura 2 mostra as diferenças na coloração do óleo essencial de capim-limão extraído a partir das folhas marrons (óleo de coloração alaranjada) e das folhas verdes (óleo de coloração amarelada típica). Segundo Gomes e Negrelle (2003), os caracteres sensoriais do óleo essencial de capim-limão, referem-se a um líquido amarelo, de odor característico de limão, sabor aromático e ardente.



(a)

(b)

Figura 2. Coloração do óleo de capim-limão extraído de folhas marrom (a) e de folhas verdes (b).

Fonte: Os autores (2018).

3 I DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO POR HIDRODESTILAÇÃO

Para estudar o comportamento do volume de óleo essencial extraído em função do tempo de extração por hidrodestilação, utilizou-se o aparelho tipo Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL, contendo aproximadamente 150 g de folhas de capim-limão e 500 mL de água. O volume de xileno no condensador foi estabelecido em 0,5 mL, conforme preconiza Brasil (2010) e o tempo de extração foi fixado em 40 min, já que experimentos preliminares indicaram que a partir de 40 min de extração havia evaporação do solvente xileno, em quantidade expressiva, e que comprometia a determinação do volume de óleo. Além disso, após 20 minutos de extração, o volume acumulado de óleo essencial obtido mantinha-se quase constante. Essa informação é bastante relevante, em termos de economia de energia e água de resfriamento durante a operação de extração.

As folhas de capim-limão utilizadas nesses experimentos foram colhidas entre agosto e setembro de 2018, ou seja, folhas adultas, submetidas a temperaturas amenas e geada. Para a realização dos ensaios de extração utilizou-se apenas as folhas verdes, eliminando as marrons da amostra, uma vez que o teor de óleo essencial é baixo, como indicado pelos resultados do teor total de óleo essencial (ver Tabela 1). As folhas foram secas naturalmente e trituradas com aproximadamente 1,5 cm de comprimento. A Figura 3 apresenta o sistema de extração, onde o calor produzido pela manta aquecedora faz com que a água que molha as folhas evapore, arrastando consigo o óleo essencial (1). O vapor e o óleo percorrem a tubulação até chegar no condensador (2), onde retornam ao estado líquido. O óleo mistura-se ao xileno no tubo graduado (3), separando-se da água devido à diferença de densidade.

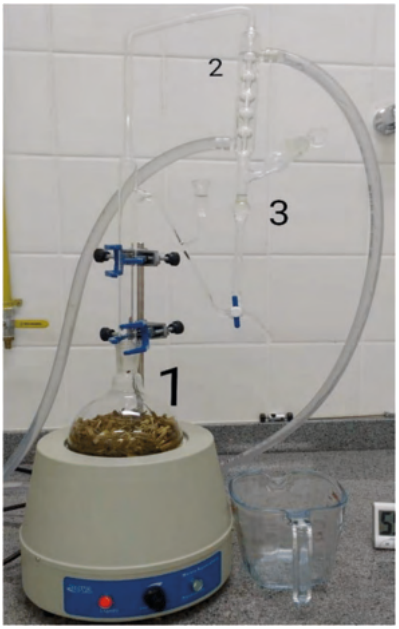


Figura 3. Sistema de extração de óleo essencial por hidrodestilação.

Fonte: Os autores (2018).

O início da extração se dá quando a primeira gota de líquido é formada no condensador (2) e, a partir desse momento, cronometra-se 40 min para o término da operação, com paradas de 5 em 5 min, para determinação do volume de óleo essencial extraído. As paradas consistiam em desligar o aquecimento, aguardar 10 min para o sistema estabilizar e realizar a leitura do volume de óleo essencial, em mL, retido no tubo graduado. Após a leitura, o sistema de aquecimento era acionado e aguardava-se a primeira gota de líquido se formar no condensador para retomar a contagem do tempo de 5 min e então repetir o procedimento para leitura do volume de líquido, sucessivamente até atingir os 40 min de extração efetiva.

Realizou-se três experimentos preliminares, com e sem maceração da amostra, para testar a influência do tratamento no volume de óleo obtido na operação de extração. A mesma amostra, colhida e seca de forma igual, foi dividida em duas partes, sendo que uma foi submetida à maceração antes da extração. A maceração da amostra consiste em deixar as folhas de capim-limão trituradas dentro de um balão de fundo redondo de 1000 mL, contendo 500 mL de água, por um período de 24 horas (Figura 4), com o objetivo de facilitar a remoção do óleo essencial das células. Segundo Rosa (2013), o óleo essencial de capim-limão encontra-se internamente nas células parenquimáticas (tecidos localizados entre a epiderme e os tecidos condutores).

Figura 4: Folhas de capim-limão após 24 horas de maceração.

Fonte: Os autores (2018).

Os dados de volume de óleo essencial em função do tempo de extração foram padronizados para volume em 100 g de matéria seca, eliminando assim a influência da diferença de massa e umidade das folhas de capim-limão utilizadas nos experimentos de extração. O conteúdo de umidade das folhas foi determinado em balança determinadora de umidade, em triplicata, para cada experimento. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 2 e os valores do volume acumulado de óleo essencial obtido ao longo dos 40 min de extração estão indicados na Figura 5.

Exp.	$\bar{U}$ (%)	$\bar{X}$ (kg de água/kg matéria seca)	σ_X (kg de água/kg matéria seca)	Volume de óleo essencial (mL/100 g folha seca)
1	25,95	0,351	0,018	1,38
2	71,71	2,536	0,096	1,30
3	71,71	2,536	0,096	1,65

Tabela 2: Conteúdo de umidade e volume acumulado de óleo essencial, em base seca.

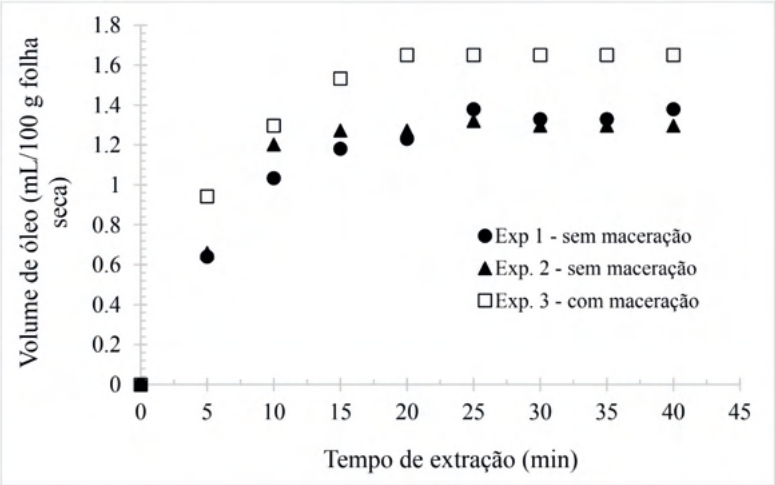


Figura 5: Volume acumulado de óleo essencial de capim-limão extraído nos experimentos preliminares, com e sem maceração.

Os dados experimentais da Figura 5 indicam que o volume máximo de óleo essencial extraído é obtido a partir de 20 min de extração e permanece constante após esse tempo. O volume acumulado de óleo essencial para os experimentos sem a etapa de maceração da amostra (Exp. 1 e 2) foram de 1,30 e 1,38 mL de óleo essencial/100 g de folha seca, com teor médio de 1,34 mL de óleo essencial/100 g de folha seca. Para o experimento com a etapa de maceração o teor de óleo obtido foi de 1,65 mL de óleo essencial/100 g de folha seca, o que representa cerca de 19% a mais de óleo extraído, indicando uma possível vantagem no uso da maceração, para folhas antigas.

Para testar a eficácia da etapa de maceração foram realizados experimentos, em triplicata, com folhas colhidas no mês de outubro de 2018 (folhas jovens, recém brotadas), as quais foram secas naturalmente e trituradas com aproximadamente 1,5 cm de comprimento. O mesmo procedimento de extração do óleo essencial descrito anteriormente foi adotado e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3 e na Figura 6.

Exp.	$\bar{U}$ (%)	$\bar{X}$ (kg de água/kg matéria seca)	σ_x (kg de água/kg matéria seca)	Volume de óleo essencial (mL/100 g folha seca)
1	52,30	1,101	0,115	2,04
2				2,87
3	13,66	0,158	0,016	1,93
4				1,82
5	17,84	0,217	0,009	2,11
6				1,91

Tabela 3: Conteúdo de umidade e volume acumulado de óleo essencial de capim-limão.

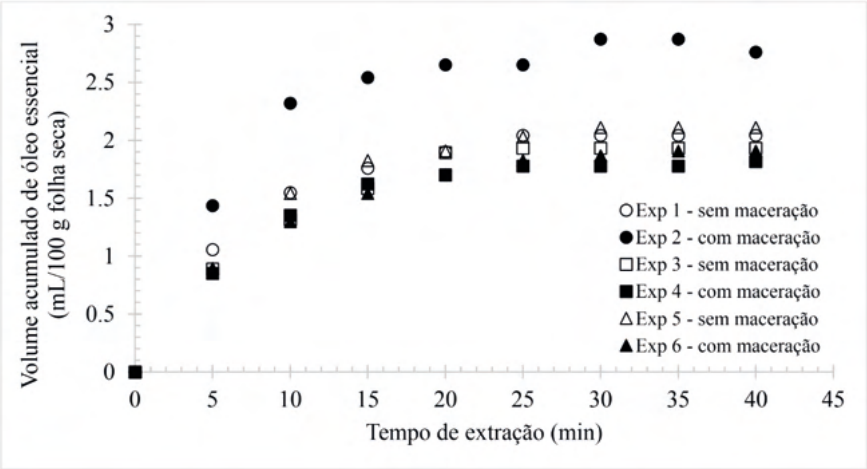


Figura 6: Volume de óleo essencial de capim-limão extraído, com e sem a etapa de maceração.

Pela análise dos dados de volume acumulado de óleo essencial em função do tempo de extração, é possível verificar que apenas para os dois primeiros experimentos, houve uma diferença considerável, com aumento do volume extraído para folhas de capim-limão que permaneceram em maceração por 24 horas. Para os outros experimentos, o mesmo comportamento não foi observado, inclusive houve diminuição do volume extraído, em comparação com a mesma amostra não macerada. Esse comportamento pode estar atrelado à heterogeneidade da amostra que pode apresentar maior ou menor concentração de óleo essencial em função de fatores biológicos da própria planta, uma vez que não é possível garantir que as extrações sejam feitas a partir de uma única planta, ou mesmo de plantas próximas.

Além disso, o conteúdo de umidade das folhas de capim-limão variou para cada amostra submetida à extração, como pode ser observado nas Tabelas 2 e 3, e pode ter influenciado a extração do óleo essencial. Tanto para os experimentos preliminares quanto para os experimentos realizados em triplicata, as amostras com maior teor de umidade apresentaram um aumento do volume de óleo essencial extraído em relação a mesma amostra sem maceração. Esse comportamento pode indicar que o encolhimento, que ocorre durante a secagem pode facilitar a remoção do óleo essencial, pela fragilização ou rompimento das estruturas das células parenquimáticas, inclusive com alguma perda de óleo durante a secagem (mesmo natural) e na maceração, já que o volume da essência foi menor para essa condição.

O volume de óleo essencial obtido na extração das folhas de capim-limão mais velhas, colhidas nos meses de agosto e setembro, mesmo verdes, foi 31,75% menor, em média, do que o volume de óleo essencial das folhas recém brotadas, colhidas no mês de outubro. Esse comportamento indica a influência da época de colheita e do estado fisiológico das folhas no rendimento da operação de extração do óleo essencial de capim-

limão.

4 I CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos em nossos experimentos é possível concluir que folhas de capim-limão submetidas a danos pelo frio (folhas de coloração marrom) possuem menor teor de óleo essencial do que folhas verdes, com alteração da coloração do óleo (alaranjado) em comparação com o óleo essencial típico de capim-limão (amarelo). Além disso, a maceração das folhas contribuiu para aumentar o teor de óleo essencial extraído, apenas para as amostras com maior teor de umidade (acima de 50%, em base úmida), indicando possíveis perdas de óleo essencial durante a secagem e a maceração.

Mesmo em folhas jovens, a maceração aumentou o volume de óleo extraído apenas para folhas de capim-limão com conteúdo de umidade mais alto, ou seja, com menor encolhimento e menos danos celulares. Para todas as amostras das folhas jovens o volume de óleo essencial extraído foi superior ao extraído das folhas mais velhas e que sofreram danos pelo frio, mas ainda assim, o volume de óleo essencial extraído está na faixa especificada pela literatura. Nesse sentido, é possível o cultivo do capim-limão em regiões mais frias para extração de óleo, como forma de diversificação de atividades pelos produtores rurais, mas como uma cultura sazonal, que diminui ou cessa a produção no inverno.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS).

REFERÊNCIAS

AJAYI, E.O.; SADIMENKO A.P.; AFOLAYAN, A.J..GC–MS evaluation of *Cymbopogon citratus (DC) Stapf* oil obtained using modified hydrodistillation and microwave extraction methods. **Food Chemistry**, v. 209, p. 262-266, 2016.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. Volume 1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010 (a).

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. Volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010 (b).

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6ª ed. Volume 1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2019.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.

DO, Thi Kieu Tiên, HADJI- MINAGLOU Francis; ANTONIOTTI, Sylvain; FERNANDEZ, Xavier. Authenticity of essential oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 146–157, 2015.

DUBEY, N. K. et al. Cijtotoxicity of essential oils of Cymbopogon citratus and Ocinun gratissimum. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Kalina, v. 59, n.5, p. 263-264, 1997.

EL ASBAHANI, A. et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220 – 243, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144. 2003.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr-jun, 2011.

KUBÁTOVÁ, A; BORIS, B; VAUDOISOT, J; HAWTHORNE, S.B. Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO_2. **Journal of Chromatography A**, n. 975, p. 175-188, 2002.

MAJEED, H. et al. Essential oil encapsulations: uses, procedures, and trends. **RSC Advances**, v. 5, p. 58449–58463, 2015.

PRAKASH, B.; KEDIA, A.; MISHRA, P. K.; DUBEY, N.K. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e Potentials and challenges. **Food Control**, v. 47, p. 381-391, 2015. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023

REBONATTO, L. N. D. Plano Municipal de resíduos sólidos. **Prefeitura municipal de Viadutos**. Viadutos, 11 dez. 2014. Acesso em: 18/02/2017. Disponível em: http://www.viadutos.rs.gov.br/uploads/categories/618/23b6d55d2bdcb24ef088f7282bf74f14.pdf>

REHMAN, R.; HANIFA, M. A.; MUSHTAQB, Z.; AL-SADI, A. M. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. **Food Reviews International**. v. 32, n. 2, p. 117–160, 2016. http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2015.1057841.

ROSA, G. M. **Teor e composição de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon Citratus* (DC) Stapf) e tomilho (*Thymus Vulgaris* L.) submetidos a diferentes temperaturas e períodos de secagem**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 436-441, 2009.

SILVA, L. N.; SANTOS S. B. F.; PAIXÃO, I. C. S.; VILELA, R. C. C.; PEREIRA, T. S. Industria de óleos essenciais no brasil: uma perspectiva a partir do programa de modernização das estatísticas econômicas. In: **Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências** CONAPESC. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/editora/anais/conapesc/2019/TRABALHO_EV126_MD1_SA6_ID1905_28062019150220.pdf2020. Acesso em: 20 dez. 2020.

VALLILO, M. I.; MORENO, P. R. H.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg-*Myrtaceae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28 (Supl.), p. 231-237, dez. 2008.

VILLAVERDE, J. M.; SANCHES, L.; TERRA, V. A.; CECCHINI, R.; ALESSANDRA LOURENÇO CECCHINI; A. L.; LUIZ, R. C. Efeitos do óleo essencial do capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) sobre células humanas de melanoma (SK-MEL 147) e queratinócitos (HaCaT). **Biosaúde**, Londrina, v. 15, n. 1, p. 22-36, 2013.

ZION MARKET RESEARCH. **O mercado global de óleos essenciais deve registrar o CAGR de quase 8,9% no período de 2020 a 2026**. Disponível em: https://www.abevd.org.br/the-cmyk-digest-estima-se-que-o-mercado-global-de-oleos-essenciais-registrara-um-crescimento-de-dois-digitos-entre-2020-2026-pesquisa-de-mercado-da-zion/. Acesso em 20 de dezembro de 2020.

CAPÍTULO 10

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE SALSICHA RESFRIADA TIPO HOT DOG COMERCIALIZADA EM UBERABA, MINAS GERAIS

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 07/10/2021

Priscila Renata da Costa
Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Pós-graduação *lato sensu* em controle de qualidade em processos alimentícios
Uberlândia, Minas Gerais.
http://lattes.cnpq.br/7175537148479501

Claudia Maria Tomás Melo
Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Professora doutora da disciplina de Higiene e sistemas de segurança em alimentos do curso de Pós-graduação *lato sensu* em controle de qualidade em processos alimentícios
Uberlândia, Minas Gerais.
http://lattes.cnpq.br/6936769406413477

RESUMO: Embutidos cárneos são alimentos muito consumidos pela população brasileira, sendo a salsicha um grande representante. Devido a esta relevância que as salsichas adquiriram na sociedade, este trabalho objetivou determinar os parâmetros físico-químicos de umidade, lipídeos, pH, cinzas, proteínas, carboidratos totais, amido e acidez de amostras de salsichas resfriadas e comparar os resultados com a legislação vigente. As amostras foram adquiridas a *granel* no comércio varejista do município de Uberaba, MG. As análises seguiram a metodologia da *Associattion of Official Analytical Chemists* (AOAC) e especificações do Instituto Adolpho Lutz (IAL). Os resultados das análises físico-químicas para a amostra de salsicha avaliada encontram-se em acordo e dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (Instrução Normativa n° 4, de 31 de março de 2000) para os parâmetros de umidade, lipídeos e proteínas, exceto para carboidratos, estando em desacordo e acima do estabelecido pela mesma legislação. O excessivo teor de carboidratos provavelmente se deve à adição intencional de amido e fécula para redução dos custos de fabricação.

PALAVRAS-CHAVE: Embutidos cárneos; análises físico-químicas; composição centesimal; salsichas.

EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF CHILLED HOT DOG TYPE SAUSAGE SOLD IN UBERABA, MINAS GERAIS

ABSTRACT: Embedded meat products are foods widely consumed by the Brazilian population, with sausage being a great representative. Due to the relevance that sausages have acquired in society, this study aimed to determine the physicochemical parameters of moisture, lipids, pH, ash, proteins, total carbohydrates, starch and acidity of chilled sausage samples and compare the results with current legislation. The samples were purchased in bulk from the retail trade in the city of Uberaba, MG. The analyzes followed the methodology of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) and specifications of the Adolpho Lutz Institute (IAL). The results of the physicochemical analyzes for the sausage sample evaluated are in agreement and within the limits established by the current legislation

(Normative Instruction n° 4, of 31st March, 2000) for the parameters of moisture, lipids and proteins, except for carbs. They are in disagreement and above what is established by the same legislation. The excessive carbohydrate content is likely due to the intentional addition of starch and cornflour to reduce manufacturing costs.
KEYWORDS: Embedded meat products; physicochemical analysis; Centesimal composition; sausages.

1 I INTRODUÇÃO

Embutidos cárneos são alimentos muito consumidos pela população brasileira. Um dos grandes destaques desse grupo é a salsicha, que possui um amplo volume de comercialização. No entanto, este produto apresenta alto risco de contaminação devido ao exagero em sua manipulação (AZEVEDO; RAIOL; VASCONCELOS, 2015).

Para iniciar as análises físico-químicas do produto “Salsicha”, primeiramente deve-se atentar para as características sensoriais, cuja superfície da amostra coletada não deve apresentar-se úmida, limosa ou viscosa; o invólucro não deve estar danificado ou com presença de parasitas que tenham atingido a massa; e a coloração deve ser rósea sem manchas esverdeadas ou pardacentas; com consistência, sabor e odor característicos (BRASIL, 2000).

Devido à relevância que as salsichas adquiriram na sociedade, torna-se muito importante ter informações de sua qualidade nutricional. Portanto, esse trabalho avaliou a qualidade físico-química, através da determinação dos parâmetros de umidade, lipídeos, pH, cinzas, proteínas, carboidratos totais, amido e acidez de amostras de salsichas resfriadas tipo *hot dog*, adquiridas *a granel*, no comércio varejista do município de Uberaba, MG.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras foram adquiridas a *granel* no comércio varejista do município de Uberaba, MG, e mantida resfriada, em caixa isopor com gelo, até o momento das análises (Figura 1). Foram determinados os teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos, amido, índice de acidez e potencial hidrogeniônico 9pH), segundo técnicas da *Associattion of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997) e do Instituto Adolpho Lutz (IAL, 1985).

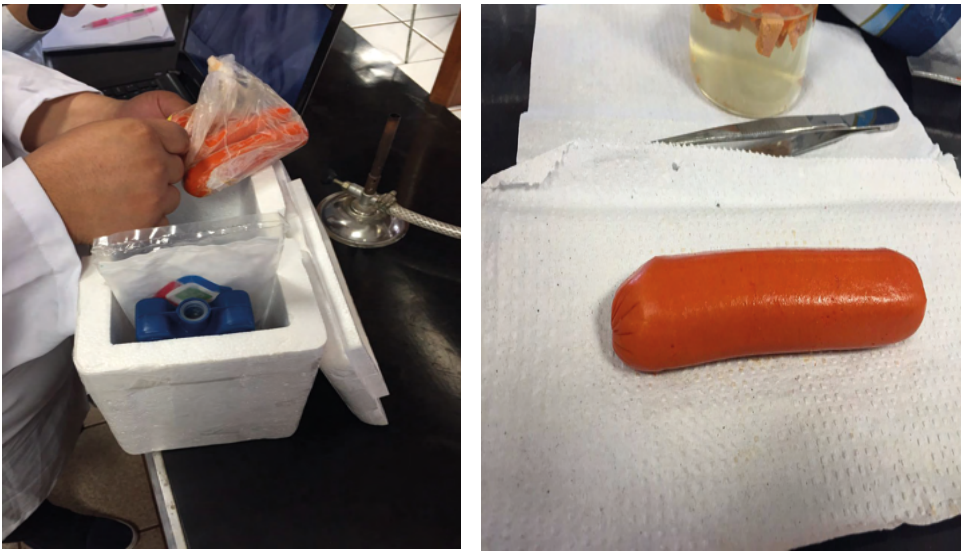


Figura 1 - Amostra de salsicha resfriada tipo hot dog.

A determinação do teor de umidade foi realizada pelo método de dessecação em estufa a 105°C (perda por dessecação e resíduos secos). A determinação de cinzas foi realizada pelo método de pesagem de resíduos após incineração em mufla a 550ºC (AOAC, 1997). A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) foi realizada por medição em pHmetro (AOAC, 1997; IAL, 1985). A determinação do teor de lipídeos foi realizada pelo método de Soxhet (processo gravimétrico por extração com éter de petróleo). A determinação do teor de proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl. Foi feito um teste qualitativo para detecção de amido, utilizando-se o método de lugol a 2%. O teor de carboidrato foi obtido pela diferença entre 100 e a somatória dos níveis de proteína, lipídeos, umidade e cinzas. A determinação do índice de acidez foi realizada por método titulável para óleos e gorduras de acordo com as especificações do IAL (1985).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação dos parâmetros foi realizada em duplicata para certificação dos resultados. Os resultados dos parâmetros físico-químicos para amostra de salsicha resfriada analisada estão demonstrados na Tabela 1.

	Amostra Salsicha Resfriada	VR de acordo com a IN4/2000
Umidade 55,65%	55,65%	Máximo de 65,0%
Cinzas	4,16%	**

pH	6,35	**
Acidez	1,45%	**
Lipídeos	17,57%	Máximo de 30,0%
Proteínas	13,27%	Mínimo de 12,0%
Carboidratos	9,35%	Máximo de 7,0%
Amido	*	Máximo de 2,0%

Tabela 1 – Padrões físico-químicos encontrados para a amostra de Salsicha Resfriada tipo hot dog.

* Quantidade indetectável de amido na amostra analisada**.**

Legenda: VR = Valores de referência.

** Valores não estabelecidos pela Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000.

De acordo com a Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000 (BRASIL, 2000), alterada pela Instrução Normativa SDA n° 33 de 05 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017), ambas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o valor limite máximo para umidade é 65%, portanto, para a amostra analisada, ela se encontra em acordo com a legislação vigente.

Para a análise de cinzas e pH não há padrão de referência em legislação. Embora, de acordo com Cecchi (2003) o conteúdo de cinzas totais para carnes e produtos cárneos é de 0,5 a 6,7%, e Azevedo; Raiol; Vasconcelos (2015), orienta um pH próximo da neutralidade, entre 6,0 e 7,0, para prevenção de desenvolvimento de bactérias láticas, caso não sejam armazenadas de forma adequada. Portanto, para a amostra analisada, estes dois parâmetros se encontram dentro dos valores aceitáveis.

A acidez encontrada em produtos cárneos deve variar entre 0,1 a 2% e o ácido predominante é o lático, e de acordo com estes parâmetros, o valor encontrado para o índice de acidez na amostra analisada foi satisfatório. Vale salientar que a exposição do produto no balcão, ou até mesmo de variações de temperatura, podem promover o crescimento de bactérias ácido-láticas, e, consequentemente, alterar os valores para cada amostra. Conforme o mesmo autor, a acidez é desejável nos alimentos, pois não permitem o crescimento de micro-organismos indesejáveis, atua na cor, sabor e na qualidade dos alimentos, porém se o alimento não for mantido nas temperaturas ideais de acondicionamento, o crescimento elevado pode causar deterioração, deixando de ser um aspecto desejável ao alimento (CECCHI, 2003).

Em relação ao teor de lipídeos, a amostra analisada encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela IN4 (BRASIL, 2000), que estabelece a quantidade máxima permitida de 30% de gordura. Salgado *et al.* (1999) encontraram valores médios de 19,5% de lipídios em amostras de salsichas *hot dog*, Angelini (2011) encontrou em salsichas comercializadas na cidade de Belo Horizonte valores que variaram de 11,21 a 22,83%, e Da Silva; Bolzan (2012) obtiveram, em salsichas comercializadas em Franscisco Beltrão, valores variáveis entre 16,08 e 22,09%. Em ambos os trabalhos, os valores encontrados para o teor de

lipídios foram próximos aos valores observados neste estudo.

A IN4 (BRASIL, 2000) determina que o teor de proteínas deva ser no mínimo de 12%, e, neste sentido, a amostra deste estudo encontra-se de acordo com esta Instrução Normativa. Segundo Angelini (2011) o percentual médio encontrado de proteínas para salsicha *hot dog*, variou de 13,15 a 14,52%, e, segundo Da Silva; Bolzan (2012) variou de 12,22 a 14,66%, valores bem próximos aos encontrados no presente trabalho.

Para o parâmetro amido, o método utilizado não conseguiu identificar sua presença na amostra analisada. Salienta-se ainda que a IN4 (BRASIL, 2000), determina que o teor de amidos deva ser no máximo de 2%, cujo valor deve estar incluído no valor máximo para carboidratos totais (7%).

De acordo com o IAL (1985), o teor de carboidrato pode ser obtido pela diferença entre 100 e a somatória dos níveis de proteína, lipídeos, umidade e cinzas, e, portanto, para a amostra analisada, e baseando-se nesse cálculo tem-se:

$$\%Carboidratos = (13{,}27 + 17{,}57 + 55{,}65 + 4{,}16) - 100 = 9{,}35\%$$

Os teores médios obtidos neste estudo encontram-se acima da quantidade máxima (7%) permitida pela IN4 (BRASIL, 2000). Este fato pode ser decorrente de formulações com porcentagem elevada de fécula de mandioca. Angelini (2011), em seu trabalho, observou que salsichas do tipo *hot dog* apresentaram teores de carboidratos que variaram de 3,95% a 16,40%, enquanto que os estudos de Da Silva; Bolzan (2012) os teores variaram de 19,82 a 33,18%. Desta forma, assim como nesse estudo, verifica-se que o teor de carboidratos em salsichas pode apresentar grandes variações, que são dependentes da amostra analisada, e dos ingredientes usados na elaboração do produto, uma vez que as indústrias de embutidos e salsicharias utilizam amido e fécula como ingredientes enchimento cuja utilização barateia a fabricação, auxiliando na retenção de água do produto, e, consequentemente, diminuindo a concentração cárnea do mesmo (ANGELINI, 2011; DAGUER, 2011). Embora, para a análise de amido, a determinação do teor deste parâmetro na amostra analisada foi indetectável.

4 I CONCLUSÕES

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de salsichas avaliadas encontram-se em acordo e dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2000), para os parâmetros de umidade, lipídeos e proteínas; e os valores de acidez, pH e cinzas estão de acordo com as referências consultadas. O parâmetro carboidrato está em desacordo e acima do estabelecido pela mesma legislação e estima-se que o excessivo teor de carboidratos deve-se à adição intencional de amido e fécula, para redução dos custos de fabricação.

REFERÊNCIAS

ANGELINI, A. P. R (2011). **Quantificação do colágeno, da composição centesimal e estudo do balanço de massa dos nutrientes declarados, na avaliação da qualidade das salsichas**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia), Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte.

ASSOCIATTION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. A.O.A.C (1997). **Official methods of analysis**, 16 ed., rev e cum. Washington. D.L. 1117p.

AZEVEDO, L.; RAIOL, G.; VASCONCELOS, S (2015). **Avaliação físico-química e microbiológica de embutidos cárneos do tipo salsicha comercializados no município de São Luís do Maranhão**. In: 55° Congresso brasileiro de química, Goiânia.

BRASIL (2017). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA n° 33 de 05 de setembro de 2017**. Altera o subitem 4.1.2 do Anexo III da Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília.

BRASIL (2000). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília.

CECCHI, H. M (2003). **Fundamentos Teóricos e Práticos em Analise de Alimentos**. 2º Edição. Editora Unicamp. Campinas-SP.

DAGUER, H., SILVA, H. D., HIGASHIYAMA, E. T., ZANETTE, C. M., BERSOT, L. S. (2011), **Qualidade de Produtos Cárneos Fabricados Sob Inspeção Federal no Estado do Paraná**, Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v.12, n.2, p.359- 364, abril/junho.

DA SILVA, J.; BOLZAN, M. E (2012). **Avaliação dos parâmetros físico-químicos e qualidade microbiológica de salsichas acondicionadas em diferentes embalagens. Monografia (Graduação em Tecnologia de Alimentos)**, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - campus de Francisco Beltrão.

INSTITUTO ADOLPHO LUTZ (1985). **Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz**: Métodos Químicos para Análise de Alimentos. 2 ed. São Paulo: Instituto Adolpho Lutz. 533p.

SALGADO, J. M.; GALVÃO, M. T. E. L; STORER, M. L. P.; BRAZACA, S. G. C (1999). **Utilização da carne de capivara na elaboração de salsicha e fiambre**. B. CEPPA, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 83-92, jan./jun.

CAPÍTULO 11

RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES EM FRANGOS DE CORTE - HÍBRIDOS COMERCIAIS (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*)

Data de aceite: 01/11/2021

Carlos Eduardo da Silva Soares
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis-SC

Fabiano Dahlke
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural
Florianópolis-SC

Lucélia Haupti
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural
Florianópolis-SC

Priscila de Oliveira Moraes
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural
Florianópolis-SC

Priscila Arrigucci Bernardes
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia

André Luís Ferreira Lima - Bernardes
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia

Diego Peres Neto
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia

Juliano de Dea Lindner
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis

Parte deste trabalho foram publicadas no periódico *Food and Public Health* DOI: 10.5923/j.fph.20170701.03 e J Food Process Technol 2016 DOI: http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.C1.051.

RESUMO: O estudo avaliou o peso e rendimento dos cortes de dois híbridos comerciais de frango. Foram alojados machos, criados de 1 a 42 dias de idade, das linhagens comerciais Cobb500 e Hubbard Flex. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por dois tratamentos - CB e HB. As aves foram criadas em galpões comerciais e ao atingir peso de abate, enviadas ao frigorífico. Foram avaliadas as características peso das aves, rendimento de carcaça e rendimento de cortes. As aves da linhagem híbrida CB apresentaram um maior rendimento para peito e pele do peito. Os maiores rendimentos de dorso, patas, coxa, osso da coxa, osso da sobrecoxa, coxinha da asa, meio da asa e ponta da asa foram obtidos pela linhagem HB. Não houve diferença significativa em rendimento no sassami, osso do peito e sobrecoxa. De acordo com os resultados percebe-se que há diferença entre as linhagens no rendimento de alguns cortes, o que facilita a escolha da linhagem mais fiel às características das demandas empresa.

PALAVRAS-CHAVE: Avicultura; Híbridos

comerciais; Consumo; Coxa; Peito.

CUT AND CARCASS YELDS OF COMMERCIAL STRAINS OF BROILER CHICKEN (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*)

ABSTRACT: The research was developed in a farm integrated to the Cooperative located in the state of Rio Grande do Sul, with the purpose of evaluating the weight and yield of the cuts of two commercial hybrids of broiler. They were housed in two sheds, male, reared from 1 to 42 days of age, of the CB and HB lineages. The experimental design was completely randomized, consisting of two treatments and 24 repetitions. 150 birds were weighed from each shed and the mean weight and standard deviation were calculated to obtain the chickens that will constitute the repetitions. The slaughter weight and yield of the cuts were made in the refrigerator. Regarding the yield of cuts, the birds of the hybrid CB lineage presented a higher yield for breast and chest skin. The highest yields of the back, paws, thigh, thigh bone, envelope bone, wing thigh, wing middle and wing tip were obtained by the HB lineage. There was no significant difference in yield in sassami, breastbone, and thigh. According to the results found, differences in some cuts are concluded, which facilitates the choice of the lineage more faithful to the characteristics of the company and that provides the best yield in the commercialized cuts.
KEYWORDS: Poultry; Commercial hybrids; Consumption; Thigh; Breast.

1 I INTRODUÇÃO

Desde o final da década de 1940, têm se intensificado os trabalhos em melhoramento genético de aves para a produção de carne. Como resultado obteve-se aumento na taxa de crescimento, diminuição da conversão alimentar e redução da idade ao abate (HAVENSTEIN et al., 1994, LOPEZ et al., 2011).

Assume-se que a genética seja responsável por 85 a 90% do crescimento do frango de corte, enquanto a nutrição representa de 10 a 15%. Esta ferramenta, por exemplo, tem determinado ganhos anuais de 0,15, 0,25 e 2,5% respectivamente, em rendimento de peito, de carcaça e peso corporal, a redução em 0,4 dias na idade de abate e 0,02 unidades em conversão alimentar por ano (CHEEMA ET AL., 2003, NOGUEIRA et al, 2019).

A história da avicultura brasileira também é repleta de transformações. Os primeiros híbridos comerciais passaram a ser importados dos Estados Unidos em meados da década de 60, e as raças puras, de dupla aptidão, deram lugar às aves mais precoces e produtivas – surge o conceito de “avicultura industrial”. Houve grande investimentos do setor, criando-se cooperativas, associações avícolas, adotando-se novos modelos de produção – a integração. A avicultura brasileira caminha para se constituir em um dos segmentos mais competitivos e dinâmicos do país (TAVARES; RIBEIRO, 2007).

Os frigoríficos foram se modernizando, e em 1973 foi criada a primeira norma técnica, publicada pelo MAPA, denominada a Lei da Federalização, que aprimorou o parque fabril em suas instalações e equipamentos para o abate de frango. Em 1975 iniciaram-se as exportações de carne de frango congelada – carcaça - para o Oriente Médio (MENDES;

SALDANHA, 2004).

No ano de 1983 iniciam-se as exportações de carne, em cortes, estimulando a indústria avícola nacional a ampliar sua capacidade de abate e automatizar as linhas de produção (MENDES; SALDANHA, 2004). Este período marca a mudança no hábito de consumo frango no país, da comercialização de carcaças inteira à praticidade dos cortes (OLIVO; RABELO, 2006). O consumo *per capita* e a produção desta carne têm aumentos permanentes, atingindo marcas históricas de 47,38 kg/Hab em 2011 e 13.845 (Mil Ton) em 2020, respectivamente (UBABEF, 2021).

Estas características influenciam diretamente no rendimento da carcaça, rendimento de cortes e na qualidade da carne, tornando-os peças importante para o retorno econômico das empresas (MOREIRA et al., 2014). A estrutura muscular é estabelecida durante a embriogênese (hiperplasia), por aumento do tamanho das células (hipertrofia) e pelo acúmulo de substâncias extracelulares. O somatório destes processos resulta em acréscimo no peso do animal e em seu tamanho conforme a idade.

Para atender as necessidades do mercado consumidor é fundamental obter dados atualizados das características produtivas das aves, como: peso ao nascer, idade da matriz, peso ao abate, idade ao abate, peso médio do lote, rendimento dos cortes, peso dos cortes entre outros. Avaliar as diferenças entre linhagens de corte é imprescindível, pois nos fornece informações das características produtivas que melhor atenda a demanda dos mercados específicos. Diante disto, este trabalho avaliou o rendimento e peso dos cortes de dois híbridos comerciais de frango de corte.

1.1 Linhagens comerciais de frangos de corte

Os frangos criados atualmente são marcas comerciais ou híbridos, oriundos de 3 ou 4 linhagens puras. Nestas linhagens, duas linhagens de fêmeas dão origem à fêmea matriz e uma ou duas linhagens de machos dão origem ao macho matriz. Em geral, estas companhias de melhoramento genético possuem diferentes linhagens com intenção de adequá-las a diversos segmentos dos mercados mundiais (MENDES; SALDANHA, 2004). As principais linhagens de híbridos comerciais de frango de corte existentes no Brasil são, Cobb, Ross, Hubbard, Label Rouge e Hybro.

1.2 Peso vivo e eficiência alimentar

São escassas as informações comparativas, relativas à produtividade, em linhagens de frangos de corte. Em 1988, realizou-se levantamento técnico com base em banco de dados zootécnicos que revelou uma variação em 145 gramas no peso vivo (de 1,833 kg a 1,978 kg) e variação na conversão alimentar de 1,94 a 1,99, ou seja, uma diferença de 50 gramas para produzir 1,0 kg de peso vivo aos 42 dias de idade, entre cinco linhagens exploradas no Brasil (MENDES; GARCÍA; PATRICIO, 1988). No ano de 2009 o peso médio do frango de corte abatido com 42 dias, atingiu 2,440kg, com conversão alimentar de 1,76 para cada quilo de peso produzido (PATRÍCIO, 2010). A partir de 2018, o peso médio à

idade de abate encontra-se acima de 2,8 kg e expectativa de até 1,5 kg de conversão alimentar.

1.3 Qualidade e tipificação da carcaça

A qualidade da carcaça do animal é determinada primeiro, pelo seu rendimento de carne, gordura e osso. O rendimento de carcaça refere-se à quantidade de carne comercializável na carcaça. Este rendimento dependerá do conteúdo muscular esquelético e da sua relação com a ossatura e gordura da ave (BRIDI, 2008). Além da genética e do gênero, a nutrição influencia no rendimento e na qualidade da carne do peito de frangos de corte, principalmente com relação aos tipos de ingredientes utilizados na fabricação das rações e aos níveis de energia, proteína e aminoácidos da dieta (RODRIGUES et al., 2008).

Existem também características qualitativas da carne, como textura, firmeza, capacidade de retenção de água e cor e aspectos organolépticos tais como maciez, sabor e suculência. Para a análise quantitativa da carcaça, utilizam-se índices, medidas e/ou avaliações do peso da carcaça, conformação (relação carne x osso), tamanho da carcaça, entre outros (BRIDI, 2008). Padronizar o produto facilita o sistema de compra e venda, pois define seu valor, tornando importante a tipificação e classificação da carcaça.

O conceito de classificação de carcaça está definido em agrupar as aves em classes que possuem características iguais ou semelhantes, formando categorias homogêneas. A classificação das aves leva em consideração o peso, conformação, presença de hemorragias e/ou machucados, ossos quebrados, cobertura de gordura, rompimento de pele e conteúdo de carne. A área, intensidade, local e número de defeitos na carcaça também são avaliados (BRIDI, 2008).

Já a tipificação diferencia as classes em tipos hierarquizados como a conformação da carcaça e gordura abdominal (BRIDI, 2008). A qualidade da carcaça e da carne de frango é cada vez mais exigida, devido uma série de transformações no hábito de consumir cortes e no surgimento de produtos desossados de carne que estão sendo procurados para serem processados, por causa do crescimento no consumo de preparo rápido (CASTILLO, 2001).

1.4 Fator que afeta o rendimento da carcaça em frangos

Alguns fatores podem afetar a qualidade e rendimento de carne do frango durante operações de abate. A tecnologia de abate de animais destinados ao consumo humano, obteve prestígio científico quando foi observado que algumas atividades que acontecem desde a propriedade rural até o frigorífico, têm bastante influência na qualidade da carne de frango (SWTLAND, 2000).

O jejum pré-abate, um dos fatores que afetam o rendimento, é o tempo total em que as aves ficam sem alimentação antes do abate. Este período envolve desde o momento da retirada da ração na granja, o tempo de apanha, carregamento, transporte e espera no

abatedouro. Trata-se de uma etapa muito importante do manejo pré-abate, pois poderá afetar a eficiência da linha de abate, o peso final das carcaças e ainda a qualidade do produto final (NORTHCUTT, 2010).

A perda de peso dos frangos de corte se inicia após a restrição alimentar, períodos longos de jejum estão associados à perda de peso (DUKE; BASHA; NOLL, 1997). A redução do peso corporal aumenta com a duração do tempo de jejum, sendo que aproximadamente 50 a 75% da perda de peso corpóreo acontece nas 4 primeiras horas, como resultado da perda de água e matéria seca nas fezes, e após 4 horas, relacionadas à retirada de água dos tecidos musculares (COELHO, 2010).

1.5 Sala de cortes (espostejamento)

Os frigoríficos que realizam as etapas de corte ou desossa das aves, devem ter instalações próprias com lavatórios e esterilizadores, seções adequadamente climatizadas, onde a temperatura não ultrapasse 12ºC e a temperatura das carnes manipuladas não pode exceder os 7ºC (BRASIL, 2000).

Os equipamentos utilizados devem ser higienizados de forma rigorosa, sem este asseio o Serviço de Inspeção não autoriza o funcionamento da seção. As roupas devem ser de cor branca e limpa a cada início de dia de trabalho. Para os homens exige-se o uso de gorro, calça, camisa ou macacão protegidos por um avental. As mulheres vestem touca, calça, blusa ou macacão protegido pelo avental. Dentro do setor é proibida a entrada de pessoas com anel, pulseiras, brincos ou qualquer outro tipo de adorno (BRASIL, 1999).

1.6 Classificações dos produtos

Existem nos frigoríficos diversas denominações para o frango como produto. Estas designações estão atribuídas ao peso do produto, presença ou não de vísceras comestíveis, idade ao abate e mercado consumidor. Nestas condições o frango é classificando em: inteiro, galeto, carcaça e *griller* (OLIVO; RABELO, 2006).

1.6.1 Frango inteiro

O frango inteiro possui peso médio em carcaça de 2,5kg e é conhecido como o produto que contém os miúdos (vísceras comestíveis como moela e fígado), pescoço com pele e patas, totalizando 92% de rendimento de carcaça.

1.6.2 Galeto

Os galetos são aves menores com cerca de 30 dias de idade, com peso médio de 800 gramas após o abate e rendimento de carcaça de 80%. São comercializados para o mercado interno, sendo servidos na culinária de forma grelhada, assada ou frita. Possuem a carne com sabor suave, macia e pouca gordura.

1.6.3 Frango carcaça

O frango carcaça eviscerado possui em média o peso abaixo de 2 kg e 83% de rendimento de carcaça. As carcaças são comercializadas normalmente com peso de 1,1 kg até 1,8 kg para contemplar o mercado de frango assado.

1.6.4 *Frango griller*

Para o mercado externo, principalmente países do oriente médio, o Brasil vende o frango *griller* inteiro, com peso após o abate de no máximo 1,5 kg, em média com 30 dias de idade, apresentando 83% de rendimento de carcaça de (OLIVO; RABELO, 2006).

1.7 Cortes

Partes ou frações da carcaça temperada ou não, com pele ou sem, com osso ou não, sem mutilações e/ou dilacerações são denominadas como corte, estas delimitações nos cortes são previamente especificadas (BRASIL, 2003). Os cortes do frango são realizados de forma detalhada, dividindo a ave de acordo com sua anatomia, separando-as pelas articulações, sendo desnecessário o uso da força ou usar de algum objeto mais pesado para pressionar a faca para o corte, usam-se somente facas bem afiadas e tesoura (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007). Os principais cortes comercializados pelas indústrias estão representados na Figura 1.

Figura 1- Mapa do Frango.

Fonte: Adaptado OLIVO & RABELO, 2006.

Por serem feitos manualmente, a coxa e a sobrecoxa são os cortes que requerem maior atenção durante a produção. No Brasil este corte é vendido inteiro ou derivando-os em coxas e sobrecoxas separadamente (OLIVO; RABELO, 2006).

A carne de frango é uma excelente fonte de proteínas e de aminoácidos, e apresenta baixo valor calórico, pois contém em torno de 10% apenas das necessidades calóricas diárias para o organismo humano. Cem gramas de filé de frango fornecem cerca de 30

gramas de proteínas e 100 gramas de coxa ou sobrecoxa de frango fornecem um pouco mais que 20 gramas de proteínas para a dieta humana (FERNANDES; PAZ; LINS, 2008). Além disto, é fonte de minerais como, selênio, fósforo, zinco, ferro, potássio e magnésio. Como vitamínica, fornece vitaminas do Complexo B (B1, B2, B6, B12 e ácido pantotênico), as vitaminas A, C e K estão presentes em vísceras comestíveis, como fígado (RUTZ et al., 2012).

O peito é o corte que possui maior aceitação entre os consumidores, pois possui aspecto agradável, cor atrativa e é utilizado na culinária mundial como um alimento saudável. Em alguns países como o Brasil, o peito de frango é comercializado inteiro com pele e osso ou em forma de filé. O mercado externo compra os cortes sem osso e sem pele e cortado ao meio em forma de filé, contendo ou não o filezinho (OLIVO; RABELO, 2006). O filé do peito, foi o corte que conseguiu sustentar o patamar de preços ao longo do ano de 2011, mesmo com o mercado avícola enfraquecido, não houve registros de queda no preço (ORTELAN, 2012).

A asa ganhou muita atenção no mercado brasileiro a partir de 1983. Comercializada inteira ou em partes, o corte subdivide-se em (coxinha da asa e meio da asa). O mercado externo compra a coxinha da asa, o meio da asa, e a ponta da asa. Para a tulipa, como é conhecida aqui no país, utiliza-se o meio da asa e a ponta, e com um processo de desossa especial é possível obtê-la (OLIVO; RABELO, 2006). Países como a China têm suas importações divididas em: um terço de patas, um terço de asas e um terço de pernas de frango (BUTLAND, 2012).

Além dos cortes apreciados pelos brasileiros, o frango oferece outras partes que caíram no gosto do consumidor, e que é de extrema importância para as indústrias na fabricação de produtos industrializados. Dentre as vísceras comestíveis o coração é o predileto pelos consumidores brasileiros. Países como Hong Kong importa quase todo o volume de patas produzido aqui. A França e Alemanha importam o fígado para produzir *pet food*, a África do Sul e Rússia importam o dorso e pescoço para produzir CMS (OLIVO; RABELO, 2006).

1.8 Exportações

O Brasil no ano de 2021 produziu 92,25% do frango na forma *in natura*, 2,45% embutidos e 2,16% produtos industrializados (ABPA, 2021). Desta forma a carne de frango vem contribuindo para o aumento de receitas do setor do agronegócio e, consequentemente, para a balança comercial brasileira (SANTINI, 2006).

1.9 Consumo de carne de frango

Há expectativas num aumento do consumo de carne de aves nos próximos anos. Em 2020 esse consumo chegue alcançou 45,27 kg *per capita*/ano, para que isso aconteça a produção deve crescer na mesma proporção (COELHO, 2010). A crescente pressão para reduzir custos na produção de frangos de corte, associado ao alto custo com a alimentação,

tem levado uma série de empresas e criadores a aumentar a taxa de lotação, como forma de reduzir os custos de mão-de-obra e de investimentos em novos aviários (LANA et al., 2001).

Do total de carne de frango produzida, 69% se destinam ao mercado doméstico, os 31% restantes são destinados para mais de 170 países (ABPA, 2021; COSTA, 2012). No último ano o consumo *per capita* de carne de frango atingiu 42,84 quilos, o que animou o setor avícola no país. Os cortes especiais foram convenientes ao mercado, pois com o crescente volume de cortes sem osso, aumentou a quantidade de matéria prima utilizada para produtos industrializados (ABPA, 2012).

2 I MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma Cooperativa, localizada na região central do estado do Rio Grande do Sul. As aves foram criadas de 1 a 42 dias de idade, alojadas em 2 galpões climatizados com temperatura e umidade monitorada, pertencentes a um cooperativado. Os galpões eram de alvenaria com 12 x 100 m de dimensões internas, estrutura de madeira com telhas de cerâmica, ventilação lateral, comedouros tipo prato, bebedouros tipo *nipple* e cama de casca de arroz de terceiro uso.

Foram utilizadas 5 rações a base de milho e farelo de soja, fornecidos de acordo com a idade das aves. Para a fase inicial 1, de 1 a 7 dias, a porcentagem de proteína bruta é de 23% e 3010 Kcal/kg, a fase inicial 2, de 7 a 14 dias, com 22% de proteína bruta e 3120 kcal/kg de energia. A fase final 1, de 14 a 21 dias, fornece 21% de proteína bruta e 3210 kcal/kg de energia, a fase final 2, de 21 a 35 dias, contém 20% de proteína bruta e 3260 kcal/kg de energia e para o acabamento, de 35 a 42 dias, usa-se 19% de proteína bruta e 3290 kcal/kg.

O projeto constitui em avaliar o rendimento e peso dos cortes de duas linhagens de frango de corte, CB e HB, utilizadas pela cooperativa. A metodologia adotada pela empresa foi a amostragem aleatória restrita, que restringe a quantidade de aves que representará a curva de distribuição da população em cada galpão avícola. Foram pesadas aleatoriamente ao acaso em diferentes partes do aviário, 150 machos de cada linhagem. Retirou-se os refugos, fêmeas e animais com partes do corpo lesionadas que poderiam interferir no momento em que as aves são desossadas.

As aves classificadas entre os intervalos de peso de cada linhagem receberam duas anilhas de plástico numeradas para o reconhecimento das carcaças durante o processo de abate no frigorífico e ao longo do teste de rendimento. A ração e a água foram administradas normalmente até o momento de restrição no dia do abate, que no caso foi de 8 horas.

Na chegada ao frigorífico as aves foram pesadas novamente para determinar o peso vivo antes do abate. Durante o processo de abate, houve um intervalo na nória para que as aves não fossem misturadas e direcionadas para outro setor, entrando na

linha de produção. No momento do abate, as aves passaram pelas etapas de pendura, insensibilização, sangria, escaldagem, depenagem, corte das patas e evisceração. No momento do resfriamento as aves devem ser retiradas da linha de produção antes da imersão no *Chiller*, pois evita que a carcaça absorva água no sistema de refrigeração ou perca por gotejamento comprometendo a avaliação do peso dos cortes (SANTOS et al., 2011). Este procedimento elimina esta variável do teste de rendimento.

Na sala de cortes (Espostejamento), a mesma pessoa faz os cortes e outra a desossa, este procedimento faz com que não haja variação na forma em que as aves são cortadas, o que evita variação entre os cortes. Os cortes provenientes de cada animal foram reunidos em uma bandeja de plástico, o que garante que todas as partes da mesma ave sejam mantidas juntas.

Com os cortes separados e identificados em sua devida bandeja, iniciou-se a pesagem dos cortes. Cada corte pesado é anotado na planilha para fazer os cálculos de rendimento e peso médio. Os dados de peso e rendimento dos cortes foram analisados pelo procedimento ANOVA do pacote de estatística (SAS), versão 9.1 e as médias foram comparadas pelo teste Tukey (5%) quando houve diferença significativa.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o rendimento médio de todos os cortes das duas linhagens de híbridos comerciais avaliadas. Podemos observar que os frangos da linhagem CB apresentaram um melhor rendimento médio em peito e pele de peito. Já as aves da linhagem HB obtiveram maior rendimento nos cortes como dorso, coxinha da asa, meio da asa, ponta da asa, patas, coxa, osso da coxa e osso da sobrecoxa. Para os demais cortes (sassami, osso do peito e sobrecoxa) não houve diferença significativa (P <0,05) no rendimento entre as linhagens.

	Linhagens			
Cortes	**CB**	**HB**	**CV(%)**	**P**
Peito(%)	16,95[a]	14,02[b]	9,39	0,0001
Sassami(%)	3,70	3,63	14,10	0,6409
Pele do peito(%)	2,08[a]	1,73[b]	14,00	0,0002
Osso do peito(%)	4,83	5,11	9,84	0,0689
Dorso(%)	11,65[b]	12,28[a]	8,23	0,0427
Coxinha da asa(%)	3,58[b]	3,95[a]	10,59	0,0038
Meio da asa(%)	2,65[b]	2,87[a]	4,47	0,0001
Ponta da asa(%)	0,88[b]	0,99[a]	5,69	0,0001

Patas(%)	3,93[b]	4,48[a]	7,20	0,0001
Coxa(%)	7,40[b]	7,72[a]	6,78	0,0470
Osso da coxa(%)	2,70[b]	3,06[a]	8,05	0,0001
Sobrecoxa(%)	11,63	11,36	6,14	0,2375
Osso da sobrecoxa(%)	1,49[b]	1,72[a]	8,87	0,0001

Tabela 1 – Rendimento médio dos cortes de duas linhagens de híbridos comerciais de frango de corte.

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem (P <0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey 5%.

Segundo Santos (2005), a linhagem CB apresentou maior rendimento de peito, sobrecoxa, que as linhagens Paraíso Pedrês e Isa Label. A proporção de dorso, asa e patas foram maiores nas linhagens Paraíso Pedrês e Isa Label em relação a CB. As variações no rendimento dos cortes na linhagem CB, têm sido atribuídas às taxas de crescimento e idade de abate. O maior rendimento da linhagem CB, pode ser atribuído ao fato de que as linhagens de híbridos comerciais de frango de corte terem sido selecionadas para este fim, principalmente no rendimento de peito.

VIEIRA (2007) comparando rendimento do peito de duas linhagens Cobb e Ross, afirma que o híbrido comercial Ross apresentou um maior rendimento de carne de peito aos 31 dias de idade, já a linhagem Cobb tiveram um maior rendimento de coxa e sobrecoxa, com diferentes dietas de perfis proteicos ideais.

Cortes	Linhagens		**CV(%)**	**P**
	CB	**HB**		
Peso na Granja(g)	2735,86	2655,19	8,19	0,2438
Peso ao abate(g)	2665,10	2566,38	8,35	0,1512
Peito(g)	452,95[a]	361,00[b]	14,52	0,0001
Sassami(g)	98,81	93,23	15,84	0,2424
Pele do peito(g)	55,42[a]	44,71[b]	16,61	0,0002
Osso do peito(g)	128,66	131,14	12,74	0,6306
Dorso(g)	310,33	316,33	12,80	0,6307
Coxinha da asa(g)	95,81	101,42	12,75	0,1556
Meio da asa(g)	70,76	73,81	8,82	0,1296
Ponta da asa(g)	23,57[b]	25,38[a]	8,42	0,0070

Patas(g)	104,81[b]	114,71[a]	9,10	0,0026
Coxa(g)	197,52	198,04	10,85	0,9374
Osso da coxa(g)	72,04[b]	78,38[a]	9,55	0,0068
Sobrecoxa(g)	309,85	291,85	10,27	0,0664
Osso da sobrecoxa(g)	39,71[b]	44,19[a]	7,77	0,0001

Tabela 2 – Peso médio dos cortes de duas linhagens de híbridos comerciais de frango de corte.

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem (P <0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey 5%.

Avaliando-se os cortes, através do seu peso médio (valor absoluto) verificamos na Tabela 2, que a linhagem HB possui maior peso nos ossos da coxa e ossos da sobrecoxa. Mesmo apresentando um peso médio maior em ossos da sobrecoxa, a linhagem HB tem um menor peso de sobrecoxa (sobrecoxa + osso da sobrecoxa), quando comparada com a CB. A linhagem HB possui um maior peso em coxa e também no osso da coxa, portanto o osso da coxa não é o responsável pelo maior peso da coxa (coxa + osso da coxa) na linhagem. Não houve diferença significativa (P<0,05) no dorso, sassami, osso do peito, coxinha da asa, meio da asa, coxa e sobrecoxa.

WINKELSTRÖTER et al. (2012) avaliando o rendimento de cortes de três genótipos (Ross, Cobb e Hubbard), encontrou melhores resultados aos 35 dias de idade, utilizando 3 rações diferentes, para peso rendimento de peito, nas linhagens Cobb e Ross. O híbrido comercial Hubbard apresentou melhores rendimentos para pernas, e a Cobb menores médias para peso rendimento e para asa.

FLEMMING et al. (2005), constatou maior rendimento de peito em linhagens Cobb em relação ao Hubbard. Porém o híbrido comercial HB, apresentou maior rendimento em asa e dorso, comparada com a linhagem CB, não houve diferença significativa em outros cortes comerciais como coxa e sobrecoxa.

Comparando-se Linhagens Hubbard com a Arbor Acres, Mendes (1993), constatou que o híbrido comercial Arbor Acres apresentou uma maior porcentagem de carne de perna (P<0,05) que a linhagem HB, e também obteve o menor consumo de alimento e melhor conversão alimentar.

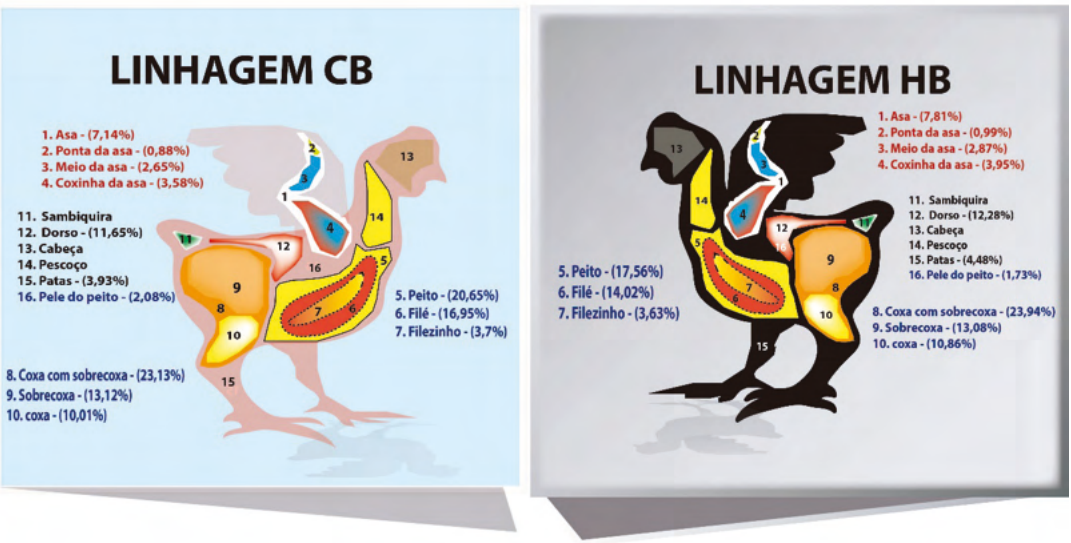


Figura 2 - Rendimento total dos cortes de duas linhagens de híbridos comerciais.

Na Figura 2 são apresentados os rendimentos totais das linhagens CB e HB. Os resultados do rendimento total dos cortes da asa, coxa e sobrecoxa e peito foram obtidos a partir do somatório de suas subdivisões, descritos na Tabela 1. Para o cálculo de rendimento total levam-se em consideração as subdivisões da asa (ponta da asa + coxinha da asa + meio da asa), coxa (coxa + osso da coxa), sobrecoxa (sobrecoxa + osso da sobrecoxa) e peito (filé + filezinho).

4 I CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que há diferença entre as linhagens testadas para características de rendimento e peso dos cortes.

A linhagem CB mostra ser melhor em peso e rendimento em carne de peito. Quando se compara o peso e rendimento de asa e coxa, a linhagem HB apresenta melhores resultados.

REFERÊNCIAS

ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEINA ANIMAL. Relatório Anual 2021. Disponível em: <www.abpa.com.br>. Acesso em: 22 de set. 2021.

BRASIL. **Instrução normativa. n° 17,** de 16 de julho de 1999. Regulamento técnico de mé todos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br> . Acesso em: 30 out. 2012.

BRASIL. **Instrução Normativa. nº 3**, de 17 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o abate Humanitário de animais de Açougue. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/instnorm3_abate.htm>. Acesso em: 10 de nov.2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n° 29 de 14 de setembro de 2010. Regulamento técnico para procedimentos de importação de produtos destinados à limentação animal e a uso veterinário. Disponível em:< http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=419570576>. Acesso em: 28 de novembro 2020.

BRASIL. Resolução n° 1, de 9 de janeiro de 2003. Nomenclatura oficial de carnes de derivados de aves e coelhos. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br> Acesso em: 28 de novembro de 2020.

BRIDI, A. **Normas de avaliação, classificação e tipificação de carnes e carcaças**. Paraná, p. 15, 2008.

BUTLAND, G. Asia: Mercado ou concorrência. **Avicultura industrial**, n. 7, p. 45–59, Jul., 2012.

CASTILLO, C. **Qualidade de carcaça e carne de aves**. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, v. 1, p. 79–99, 2001.

CHEEMA M.A., QURESHI M.A., HAVENSTEIN G.B.A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science,** V: 82,1519-1529, 2003.

COELHO, L. C. **Condenações de Carcaças de Frangos de Corte em Linha de Inspeção Federal no Norte do Paraná**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2010.

COSTA, C. O Papel do Brasil no futuro da avicultura. **Avicultura industrial,** n. 7, p. 33–44, Jul., 2012.

DUKE, G.; BASHA, M.; NOLL, S. Optimum duration of feed and water removal prior to processing in order to reduce the potential for fecal contamination in turkeys. **Poultry science, Poultry Science Association**, v. 76, n. 3, p. 516–522, 1997.

FERNANDES, C.; PAZ, G.; LINS, J. **Avaliação das condições de frigorificação de carcaças de frangos de corte em diferentes pontos do processo produtivo, distribuição e comercialização**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Castelo Branco. São Paulo. 2008.

FLEMMING, JOSÉ SIDNEY; JANZEN, STEPHAN A.; ENDO, MÁRCIA AKENI. Rendimento de carcaças em linhagens comerciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 4, n. 1, 1999.

HAVENSTEIN, G. et al. Carcass composition and yield of 1991 vs 1957 broilers when fed typical 1957 and 1991 broiler diets. Poultry science, **Poultry Science Association**, v. 73, n. 12, p. 1795–1804, 1994.

JOHNSON, R. Growth physiology and biotechnology: potential to improve broiler production. **World's Poultry Science Journal,** CABI Publishing, v. 46, p. 228–240, 1989.

LANA, G. et al. Estudo técnico-econômico da criação de frangos de corte alojados sob diferentes densidades e programas de alimentação. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Sociedade Brasileira de Zootecnia** Piracicaba, p. 712–714, 2001.

LOPEZ KP, SCHILING MW, CORZO A. Broiler genetic strain and sex effects on meat characteristics. **Poultry Science**, 2011; 90:1105-1111

LYON, C.E.; PAPA, C.M.; WILSON JR., R.L. Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. **Poultry Science**, v.70, p.1020-1025, 1991.

MENDES, A.; GARCÍA, E.; PATRICIO, I. Desempenho e rendimento de carcaça de cinco linhagens comerciais de frangos de corte. Boletim. Técnico. **Big Birds**, v. 1, p. 2–10, 1988.

MENDES, A. **Cadeia Produtiva da carne de aves no Brasil**. In: MENDES, A.A; NAAS, I. A; MACARI, M (Ed(s)). *Produção de frangos de cortes*. Campinas: FACTA, 2004. cap. 1, p. 1–22.

MOREIRA, J. et al. Efeito da densidade populacional sobre desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne em frangos de corte de diferentes linhagens comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia, SciELO Brasil**, v. 33, n. 6, p. 1506–1519, 2004.

OGUEIRA, B.R.F., REIS M.P., CARVALHO, A.C., MENDOZA, E.A.C., OLIVEIRA, B.L. Performance, Growth Curves and Carcass Yield of Four Strains of Broiler Chicken. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.21, 001- 008, 2019.

NORTHCUTT, J. **Factors influencing optimal feed withdrawal duration**. University of Georgia, v. 3, p. 211–219, 2010.

OLIVO, N; RABELO, R. A. **Cortes e rendimentos**. In: OLIVO,R. (Ed).*O mundo do frango***:** Criciúma-SC: do autor, 2006. p. 281–285.

ORTELAN, C. Semestre bom aumenta expectativas do setor para 2012. **Avicultura Industrial**, n 7 p. 25–34, Jan., 2012.

PATRÍCIO, I. S. 20 anos de desempenho zootécnicos do frango nas condições brasileiras - parte 1. **Avicultura Industrial,** São Paulo, n. 10, p. 34-41. Jun., 2011.

RODRIGUES, K. et al. Qualidade da carne de peito de frangos de corte recebendo rações com diferentes relações lisina digestível: proteína bruta1**. Revista. Bras. Zootec, SciELO Brasil,** v. 37, n. 6, p. 1023–1028, 2008.

ROSTAGNO, H. et al. **Composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para aves e suínos**, v. 2, 2005.

RUTZ, F et al. Nutrição e qualidade de carnes de aves. **Avicultura Industrial**, n. 01, p. 36–39, Jan., 2012.

SANTINI, G. A. **Dinâmica tecnológica da cadeia de frango de corte no Brasil: Análise dos segmentos de insumos e processamento**. 2006. 269 f. Tese (Engenheira de Produção) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 2006.

SANTOS, A. do; PEREIRA, L.; GONÇALVES, C. Investigação de fatores que afetam a qualidade e o rendimento de carcaças de frango. **Norte Cientîfico**, v. 5, n. 1, 2011.

SANTOS, A. et al. Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frango de corte1. **Revista Bras. Zootec, SciELO Brasil**, v. 34, n. 5, p. 1589–1598, 2005.

VENTURINI, Katiani Silva; SARCINELLI, Miryelle Freire; SILVA, LC da. Características da carne de frango. **Boletim Técnico-Pie-Ufes**, v. 1307, 2007.

SCHMIDT, G. et al. Genetic evolution of pure paternal and maternal broiler lines. Pesquisa Agropecuária Brasileira, SciELO Brasil, v. 34, n. 4, p. 623–627, 1999.

SCHMIDT, G.; MUNARI, D.; FIGUEIREDO, E. de. Mudanças genéticas em linhas puras de frango de corte. **Pesquisa agropecuária brasileira., Brasília, SciELO Brasil**, v. 34, n. 4, p. 623–627, 1999.

SOUZA, E.; FILHO, T. **Genética avícola**. In: MENDES, A. A. (Ed.). *Produção de Frangos de corte*: Campinas: Facta, 2004. p. 23-34.

SWATLAND,H.J. **Slaughtering**. Disponível em: <http\\:www.bert.aps.uoguelph.ca/ ~swatland/ ch1.9.html >. Acesso em: 28/11/2012.

MENDES, Ariel Antônio; NAAS, Irenilza de Alencar; MACARI, Marcos. ***Produção de frangos de corte***. Campinas: FACTA, 2004.

STRINGHINI, J.H.; LABOISSIÉRE, M.; MURAMATSU, K. et al. Avaliação do desempenho e rendimento de carcaça de quatro linhagens de frangos de corte criadas em Goiás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.183-190, 2003.

TAVARES, Luciano; DE SOUSA RIBEIRO, Kárem Cristina. Desenvolvimento da avicultura de corte brasileira e perspectivas frente à influenza aviária. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 9, n. 1, 2007.

WINKELSTRÖTER et al. **Rendimento de carcaça e cortes de genótipos de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis nutricionais no período de 1 a 35 dias de idade**. In: IX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL. 2012, João Pessoa**.** SMBA**,** 2012. Paraíba: 2012.

CAPÍTULO 12

ÓLEOS VEGETAIS EM PRODUTOS CÁRNEOS: PERSPECTIVAS FUTURAS PARA SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA ANIMAL

Data de aceite: 01/11/2021

Data de submissão: 08/10/2021

Juliana de Andrade Mesquita
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Cuiabá, Mato Grosso
http://lattes.cnpq.br/4283112159639358

Erika Cristina Rodrigues
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Cuiabá, Mato Grosso
http://lattes.cnpq.br/3906913063084220

Katiuchia Pereira Takeuchi
Universidade Federal de Mato Grosso
Cuiabá, Mato Grosso
http://lattes.cnpq.br/1724899631394370

Edgar Nascimento
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Cuiabá, Mato Grosso
http://lattes.cnpq.br/3299432221690921

Rozilaine Aparecida Pelegrine Gomes de Faria
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Cuiabá, Mato Grosso
http://lattes.cnpq.br/0343631478123162

Parte do trabalho de dissertação de mestrado do primeiro autor; Fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela bolsa concedida e, ao IFMT – Cuiabá, campus Bela Vista, pela estrutura e Edital IFMT/PROPES chamada 04/2018; *autor correspondente

RESUMO: A qualidade dos óleos vegetais tem se destacado diante da discussão sobre dieta saudável e o que isso representa na saúde do consumidor. Os óleos vegetais possuem componentes nutricionais como os ácidos graxos essenciais, e em grande maioria apresentam ácidos insaturados incluindo os monoinsaturados e poli-insaturados em maiores concentrações do que os saturados, compostos bioativos, dentre os quais carotenoides, vitaminas lipossolúveis. Tais compostos são considerados fundamentais para a dieta humana e propostas de mudanças nas formulações dos produtos como linguiças, salsichas e hambúrgueres podem ser feitas para melhorá-los nutricionalmente. A adição de compostos funcionais como as fibras e a redução e/ou substituição de insumos considerados maléficos a saúde (sais, gordura animal acompanhada pela gordura saturada e colesterol e os corantes artificiais) podem acarretar problemas de saúde a longo prazo. Para a indústria de produtos cárneos é necessário a alteração na formulação dos produtos convencionais buscando trazer melhora nutricional, principalmente nos produtos classificados como *take-and-go*. Porém, essa alteração poderá afetar as propriedade tecnológicas e de aceitação sensorial. Assim, a preocupação com a oferta de produtos cárneos com melhor perfil nutricional bem como

garantia de manutenção das propriedades tecnológicas tem sido uma procura pela indústria alimentícia para atender essa nova exigência de mercado consumidor, ou seja, praticidade com a saudabilidade dos produtos prontos para o consumo.
PALAVRAS-CHAVE: Ácidos graxos insaturados, saudabilidade, alimentos ready-to-eat.

VEGETABLE OILS IN MEAT PRODUCTS: FUTURE PERSPECTIVES FOR REPLACING ANIMAL FAT

ABSTRACT: The quality of vegetable oils has been highlighted in the discussion about healthiness and how this affects the acceptance of new products by the consumer market. Vegetable oils have nutritional components such as essential fatty acids, and most of them have unsaturated acids, including monounsaturated and polyunsaturated acids in higher concentrations than saturated ones, bioactive compounds, including carotenoids and fat-soluble vitamins. Such compounds are considered essential to the human diet and proposals for changes in the formulation of products such as sausages and hamburgers can be made to improve them nutritionally. The addition of functional compounds such as fiber and the reduction and/or substitution of ingredients considered harmful to health (salts, animal fat accompanied by saturated fat and cholesterol and artificial colors) can result in long-term health problems. For the meat products industry, it is necessary to change the formulation of conventional products in order to provide nutritional enhancement, especially in products classified as take-and-go. However, this alteration may affect the technological properties and sensory acceptance. Thus, the concern with the offer of meat products with a better nutritional profile as well as the guarantee of maintaining the technological properties has been a demand by the food industry to attend this new requirement of the consumer market, i.e., practicality with the healthiness of the products ready for eating.
KEYWORDS: Unsaturated fatty acids, healthiness, ready-to-eat foods.

1 I ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos e gorduras apresentam naturalmente acilgliceróis que apresentam em sua estrutura básica os ácidos graxos saturados ou insaturados (ZAHIR et al., 2017). Óleos vegetais comestíveis são obtidos apenas de origem vegetal e contém pequenas quantidades de fosfatídeos e constituintes insaponificáveis, apresentam ácidos graxos livres e ácidos graxos essenciais que podem variar os teores de constituintes conforme a espécie (Tabela 1), condições agronômicas e climáticas, maturação, modo de extração e de armazenamento. Dentre as variedades de óleos e gorduras comestíveis estão os óleos de coco, girassol, amendoim, gengibre, soja, mostarda (DORNI, et al., 2018), azeitona, pequi, palma, abacate, uva e canola. Além disso alguns compostos podem apresentar atividade antioxidante e anti-inflamatória (CARDENO et al., 2014; CICERO et al., 2018; YANG et al., 2018).

De acordo com Pereira et al. (2019), alguns parâmetros devem ser estudados para verificar a estabilidade de óleos e gorduras tais como os índices de acidez, peróxidos,

iodo, saponificáveis, matéria insaponificável, viscosidade e densidade. Parâmetros como a viscosidade é diretamente proporcional ao comprimento da cadeia das moléculas e a densidade relaciona-se proporcionalmente ao grau de insaturação (AQUINO et al., 2012; CERIANI et al., 2008; RADUNZ et al., 2018; SANTOS et al., 2018).

Tipos de óleo vegetal	Origem da extração	Componentes observados	Referências
Óleo de linhaça	Semente	Ácidos α-linolênico, ácidos óleico e linoleico	Karaca; Low; Nickerson, (2013)
Óleo de soja	Semente	Ácidos linoleico, linolênico e oleico	Gresshoff (2013); Aquino et al., (2012)
Óleo de pimenta vermelha	Semente	Ácidos linoleico, oleico, hexadecanoico, esteárico e linolênico	Ozyildiz et al., (2013); Wang et al., (2014)
Óleo de noz	Semente e fruto	Ácidos linoleico, oleico, linolênico, palmítico e esteárico, fitoesterol	Calvo et al., (2011); Xu et al., (2016)
Óleo de oliva	Frutos inteiros	Ácidos oleico, linoleico e palmítico/ Fenolicos totais	Lockyer e Rowland (2014); Cicero et al., (2018)/ Rodríguez-Carpena, Morcuende & Estevez, (2012)
Óleo de farelo de arroz	Grão	Fitoesterol, compostos fenólicos e esterois	Liu et al., (2019)
Óleo de uva	Semente	Ácido linoleico, compostos fenólicos, fitoesterol, ácido essencial	Wen et al., (2016); Yang et al., (2013); Cicero et al., (2018)
Óleo de castanha do Brasil	Castanha	Ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico	Cicero et al., (2018); Serra et al., (2019)
Óleo de milho	Grão	Compostos fenólicos, tocoferol e esteróis	Liu et al., (2019)
Óleo de abacate	Fruto	Ácidos oleico, palmitico e linoleico, compostos fenólicos	Cicero et al., (2018)/ Rodríguez-Carpena, Morcuende & Estevez, (2012)
Óleo de macadâmia	Fruto	Ácidos oleico, linolênico e palmitoleico	Cicero et al., (2018)
Óleo de côco	Fruto	Ácidos láurico e mirístico	Cicero et al., (2018); Orsavova et al., (2015)
Óleo de canola	Semente	Ácidos oleico, linoleico e linolênico	Cicero et al., (2018)
Óleo de palma	Fruto (polpa)	Ácidos palmítico, oleico e linoleico/ Polifenóis e carotenoides totais	Cicero et al., (2018); Szydłowska-Czerniak et al., (2011)
Óleo de girassol	Semente	α-tocoferol, ácido essencial linoleico	Rodríguez-Carpena, Morcuende & Estevez, (2012); Liu et al., (2019)
Óleo de macaúba	Polpa	Fitoesterois, ácidos oleico, palmítico e β-caroteno	Trentini et al., (2016)
Óleo de tucumã	Polpa	Tocoferóis (α e β tocoferol), esteróis (β-Sitosterol, Campesterol)	Santos; Alves; Ruíz-Méndez, (2013a)
Óleo de pequi	Polpa	Ácidos plamitico e oleico/ Carotenoides (β-caroteno)	Cicero et al., (2018)/ Ribeiro et al., (2012)

Tabela 1. Componentes observados em diferentes tipos de óleos vegetais.

Fonte: Adaptado de Bakry et al., (2016).

As variações relacionadas a composição de ácidos graxos presente nos alimentos podem afetar a qualidade nutricional pois alguns ácidos graxos possuem características de redução na oxidação do colesterol, como é o caso do ácido oleico (FREITAS et al., 2017). De acordo com Terés et al. (2008), a ingestão de azeite de oliva induz os efeitos hipotensores devido à alta quantidade de ácido oleico presente (70 a 80 %), aumenta os níveis de ácido oleico na corrente sanguínea e regula os lipídeos da membrana reduzindo a pressão arterial. Segundo Cicero et al., (2018), quantidades notáveis de ácido oleico são apresentadas no óleo de oliva (67,91 %) sendo o maior dentre os óleos comestíveis determinados em sua pesquisa, seguidos dos óleos de abacate (59,46 %) e pequi (56,48 %).

A estabilidade oxidativa dos óleos comestíveis está relacionada com o grau de instauração dos compostos presentes, ou seja, maior quantidade de ácidos graxos poli-insaturados mais sensíveis a oxidações lipídicas (PARDAUIL et al., 2011) e ao aquecimento. Em estudo de cinética de oxidação aplicando de 100 a 150°C mostra que os óleos que contém maior proporção de ácido oleico se mantem mais estáveis quando comparado com óleos com maior concentração de ácidos poli-insaturados e em presença de antioxidantes, como o α-tocoferol (ROMAN et al., 2013).

O óleo extraído da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata*) apresenta altas quantidades de β-caroteno, fitoesteróis, tocoferóis e ácidos graxos monoinsaturados (aproximadamente 70%) (COLOMBO et al., 2018), sendo considerando de boa qualidade para aplicações em formulações de alimentos (TRENTINI, et al., 2016).

O óleo de palma é bastante utilizado em indústrias alimentícias em produtos como margarina, cereais, comidas congeladas (pizzas, batatas e panquecas), gorduras de confeitaria e ofertado no mercado para uso culinário. Sua composição apresenta quantidades de ácidos saturados (50%), em maior quantidade o ácido palmítico, monoinsaturados (40%), o ácido oleico, e entre poli-insaturados (10%) o ácido linoleico, apresenta uma proporção de ácidos graxo insaturado/saturado em 50/50% (MANCINI et al., 2015), possui alto conteúdos de carotenoides totais (500-700 $mg.kg^{-1)}$, tocoferol total (500-600 mg.kg-1), tocotrienóis totais (1000-1200 mg.kg-1) (KOUSHKI; NAHIDI; CHERAGHALI, 2015).

O óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) tem apresentado altas proporções de β-caroteno (2786,83 $\mu g.g^{-1}$), tocoferóis (122,20 $mg.kg^{-1}$) e ácido oleico (74,21 %) conforme estudo de Speranza et al., (2018).

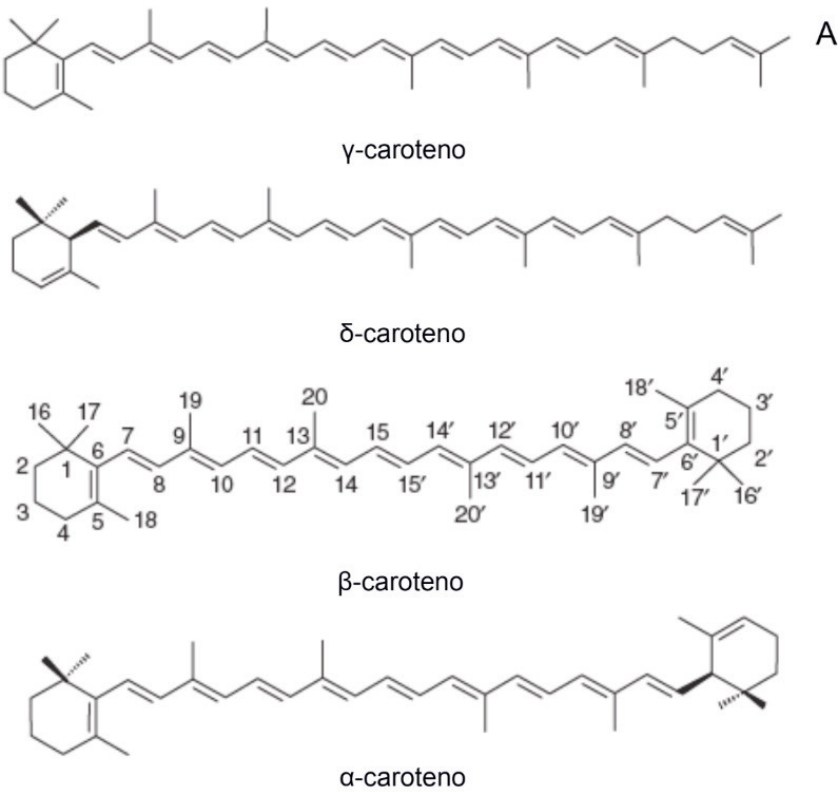
Além do grau de insaturação, o processo de refino também pode diminuir a qualidade dos óleos quanto à resistência as oxidações lipídicas, pois o método de refino acarreta na perda quase total da quantidade dos componentes como tocoferóis, fitoesteróis e polifenóis que atuam como antioxidantes naturais (WANG et al., 2018a; GHAZANI, GARCÍA-LLATAS E MARANGONI, 2014).

2 | SUBSTÂNCIAS POTENCIALMENTE BIOATIVAS ENCONTRADAS EM ÓLEOS VEGETAIS

2.1 Carotenoides

Os compostos bioativos se apresentam naturalmente em derivados ou fontes de origem vegetal, animal ou marinha no qual pode fornecer algum benefício desejado a saúde ou bem-estar do consumidor (EL SOHAIMY, 2012).

Os carotenoides são compostos considerados pigmentos de origem natural responsáveis pela coloração de vários alimentos dentre eles hortaliças, frutas e peixes. As cores podem ser diversas conforme cada tipo de carotenoide, bem como a quantidade presente no alimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 2004), apresentam alta capacidade antioxidante (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015) e são lipossolúveis. Podem ser divididos em duas classes; os carotenos: moléculas não oxigenadas como α-caroteno, β-caroteno e licopeno; e as xantofilas: moléculas com oxigênio como zeaxantina e luteína (Figura 1). As cores atribuídas aos carotenoides variam para cada composto, como o amarelo-laranja são atribuídos a α e β-caroteno; os verdes escuros advém da luteína e zeaxantina (AMORIM-CARRILHO et al., 2014).



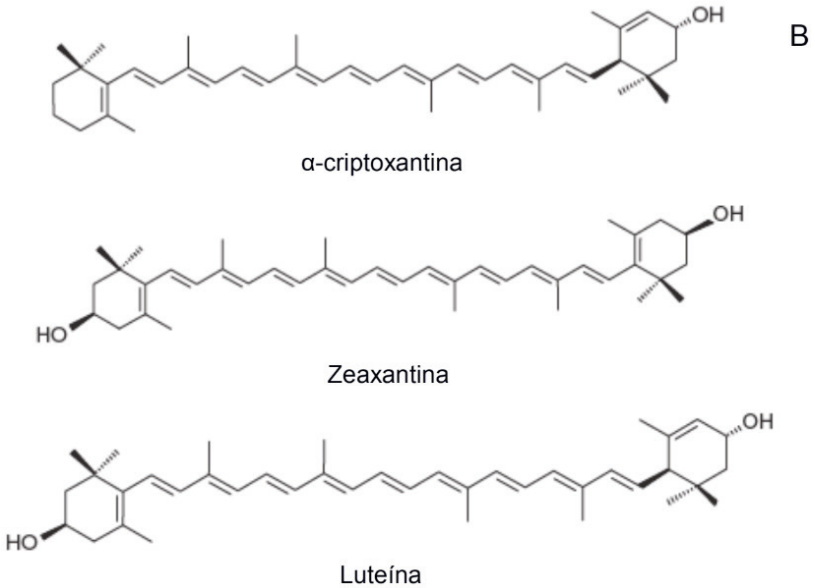


Figura 1. Estruturas de carotenos (A) e de xantofilas (B). Fonte: Rodriguez-Amaya, 2016a.

Esses pigmentos podem ser adicionados em produtos alimentícios direta e/ou indiretamente por meio da alimentação de animais. Os corantes naturais chamam a atenção dos consumidores pela possível substituição dos corantes artificiais, porém normalmente são menos estáveis quando comparados com os colorantes artificiais (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016b). O Cerrado brasileiro se mostra influente dentre as espécies de plantas com potencial desses recursos, frutas como *Annona crassiflora* (araticum), *Solanum lycocarpum* (lobeira), *Eugenia dysenterica* (cagaita) e *Caryocar brasilense* (pequi) apresentam excelente capacidade antioxidante em diferentes frações dos frutos (ROESLER et al., 2007).

Como os animais não podem sintetizar compostos como carotenos responsáveis pela formação da provitamina A o que se se faz necessária a ingestão através da alimentação, pois estão associados a benefícios à saúde como quimio-proteção, prevenção de doenças cardíacas e vasculares, além das doenças crônicas como cataratas, degeneração macular, que está relacionada a idade e doenças degenerativas (AMORIM-CARRILHO et al., 2014). Os carotenoides podem proteger as células contra a foto-oxidação, interações com o oxigênio molecular também é relatada, além de atuar com as espécies radicais e na prevenção da peroxidação lipídica os quais colaboram na manutenção da saúde, pois acredita-se que as doenças são ativadas pelos radicais livres. Esta capacidade tem sido sugerida como a principal ação dos carotenoides (AMORIM-CARRILHO et al., 2014).

Dentre os carotenoides precursores de vitamina A está o β-caroteno considerado mais relevante por sua molécula ser aproveitada totalmente na transformação em provitamina A, onde é gerado duas moléculas de retinol, esses compostos são convertidos

no organismo apenas quando o corpo humano necessita para utilizá-los, prevenindo o acúmulo de vitamina A o que poderia trazer toxicidade (RODRIGUEZ-AMAYA, 2004). Além de ser um estimado como como um forte removedor de radicais livres, e potente atenuador do oxigênio singlete.

Carotenoides com 9 a 11 ligações duplas conjugadas são mais eficientes em absorver a energia do oxigênio singlete, distribuindo-a na molécula e dissipando em forma de calor (Figuras 2 e 3) (ARAÚJO, 2015; KEHRER, 1993; SCHWENKE, 1998).

$$\beta\text{-caroteno} + ROO^{\cdot} \longrightarrow \beta\text{-caroteno}^{\cdot}$$
$$\beta\text{-caroteno}^{\cdot} + O_2 \longrightarrow \beta\text{-caroteno-}OO^{\cdot}$$
$$\beta\text{-caroteno}^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow \text{Produto inativo}$$

Figura 2. Esquema simplificado da oxidação do β-caroteno. Fonte: Araújo, 2015.

$$^{1}O_2 + \text{Carotenoide} \longrightarrow {}^{3}O_2 + {}^{3}\text{Carotenoide}$$
$$^{3}\text{Carotenoide} \longrightarrow \text{Carotenoide} + \text{Calor}$$

Figura 3. Reação de captura do oxigênio singlete. Fonte: Rodriguez-Amaya, 2016a.

Os óleos brutos advindos de frutos possuem altas quantidades de compostos antioxidantes, os hidrofílicos representados pelos polifenóis e os lipofílicos representados pelos carotenoides e tocoferóis (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2011). Os frutos da região do Cerrado, na obtenção de óleos vegetais se mostram promissores quanto a capacidade fenólica e antioxidante (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015). Dentre os quais, o buriti apresenta as mais altas concentrações de ácido oleico e carotenoides (MANHÃES; SABAA-SRUR, 2011).

2.2 Ácidos graxos insaturados

Dentre os componentes dos óleos vegetais comestíveis os triacilgliceróis (TAGs) são considerados os compostos mais importantes e estão presentes em maiores quantidades. E essas biomoléculas determinam as propriedades físicas, químicas e nutricionais de cada óleo (COZZOLINO; GIULIO, 2011). Os TAGs são formados a partir da reação de esterificação do glicerol com os ácidos graxos. Segundo Souza, Matsushita e Visentainer (1998) e Orsavova et al. (2015), os ácidos graxos são ácidos carboxílicos, onde são denominados e classificados em relação aos números de carbonos e ligações duplas; podendo ser saturados (AGS), sem ligações duplas, monoinsaturados (AGMI), com uma ligação dupla ou poli-insaturados (AGPI) com duas até seis ligações duplas (Figura 4).

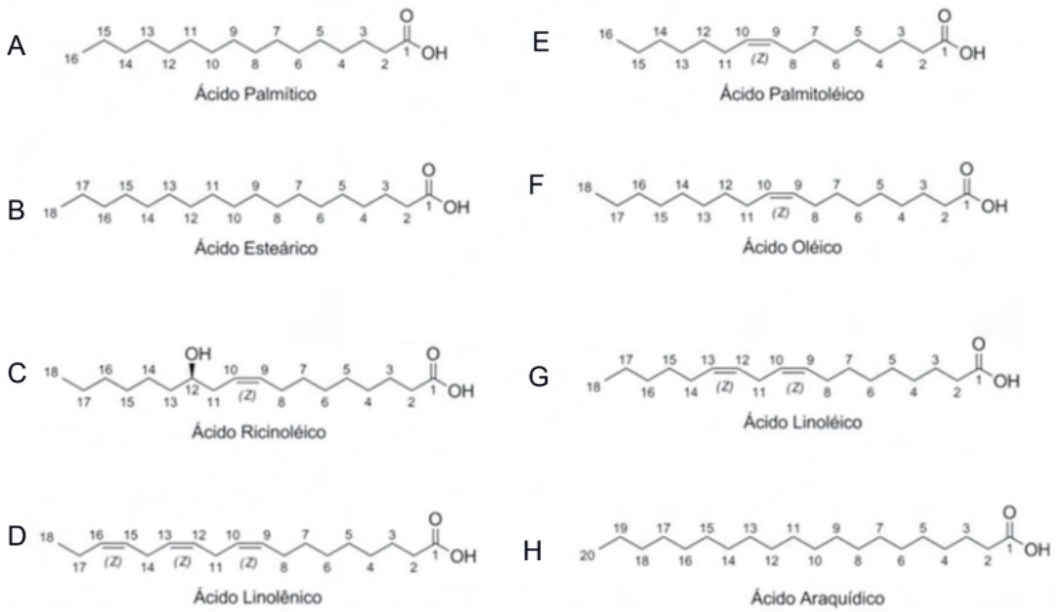


Figura 4. Estruturas de ácidos graxos: Saturados (AGS: A, B, H); Monoinsaturados (AGMI: C, E, F) e Poli-insaturado (AGPI: D, G). Fonte: Dantas, 2010.

Ácidos graxos poli-insaturados da classe ω6 e ω3 não são sintetizados pelo organismo humano, então se faz necessária a obtenção através da dieta como o ácido linoleico (C18:2ω6) e ácido α-linolênico (C18:3ω3), por isso são chamados de ácidos graxos essenciais (MOREIRA; CURI; MANCINI-FILHO, 2002). Por muito tempo vem sendo recomendados a ingestão diária dos ácidos graxos essenciais, pois estão relacionados na promoção da saúde de quem os consome. A recomendação da ingestão de óleos vegetais ricos em ácidos graxos do tipo AGMI como o ácido oleico (C18:1ω9), tem aumentado a busca por novas fontes que atendam esses conteúdos (COSTA-SINGH; BITENCOURT; JORGE, 2012). Apesar do ácido oleico não ser essencial, tem importante influência na saúde.

A variedade do Cerrado brasileiro em espécies oleaginosas vegetais pode proporcionar novas possibilidades de utilização para melhor aproveitamento dos ácidos contidos, estudo da estabilidade térmica de óleos de plantas do Cerrado como óleos de amburana (*Amburana cearenses*), baru (*Dypterix alata* Vog.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) são fundamentados nos altos teores de ácido oleico presente, tornando úteis para o consumo humano (GARCIA et al., 2007). Proporções altas de AGMI observada de ordem decrescente nos óleos de buriti (*Mauritia flexuosa* L.), tucumã (*Astrocaryum vulgare*), pupunha (*Bactris gasipaes*) e inajá (*Maximiliana maripa*) foram relatados que poderiam ser considerados óleos saudáveis, pois os compostos bioativos presentes dão a eles um valor agregado (SANTOS; ALVES; ROCA, 2015).

Segundo Santos et al., (2013b), existe uma forte influência dos ácidos graxos sobre a saúde humana, onde as gorduras saturadas causam um efeito hipercolesterolêmico, em específico na lipoproteína de baixa densidade (LDL), enquanto que o contrário acontece pelos ácidos insaturados em específico pela atuação do ácido oleico. Para Bragagnolo, (2002); DiNicolantonio e Okeefe (2019), os ácidos graxos poli-insaturados trazem benefícios, pois reduzem agregações das plaquetas, diminuindo os riscos de doenças cardíacas. O óleo de oliva, um dos mais populares óleos comestíveis, com possíveis ações benéficas à saúde, apresenta em maior porção de ácidos graxos, entre eles o ácido oleico (EL SOHAIMY, 2012).

A relação dos ácidos graxos em um alimento é de grande importância nutricional, a relação ω6/ω3 é essencial para o organismo, porém em altas quantidades podem gerar quadro de inflamações crônicas não-transmissíveis (BENJAMIM et al., 2018). Wijendran e Hayes (2004), sugerem que ambas as séries são necessárias para alcançar benefícios ótimos na saúde correspondendo em uma relação ω6/ω3 de 6/1. Apesar da razão ω3/ω6 ter ganhado destaque pelo potencial benefício à saúde, não se tem um consenso sobre qual o valor desta proporção seria a ideal (SIMOPOULOS, 2002). A recomendação de acordo com Wood et al., (2004) são para uma proporção até 4,0, porém valores encontrados em carnes normalmente são maiores que isso (PEÑUELA-SIERRA; CASTAÑEDA-SERRANO; SANMIGUEL, 2015).

A proporção de ácidos graxos poli-insaturado/ácidos graxos saturados (AGPI/AGS) e relação dos ácidos graxos hipocolesterolêmicos/Hipercolesterolêmicos (h/H) são usados normalmente para qualificar o valor nutricional da gordura presente nos alimentos (SANTOS-SILVA et al., 2002). Os valores para AGPI/AGS adequados são reportados por Wood et al., (2004) de, no mínimo 0,4, e de acordo com Matos et al., (2019), os valores de h/H é diretamente proporcional a quantidade de AGPI considerado mais benéfico para a saúde humana, e leva em consideração os efeitos dos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI). Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) são utilizados de modo frequente na verificação do estímulo de agregações plaquetária (SANTOS-SILVA et al., 2002), estes índices tem forte influência na prevenção de doenças e na promoção da saúde (MATOS et al., 2019).

De acordo com Speranza et al., (2016) e Pardauil et al., (2011), existe interesse também pela sua estabilidade a oxidação devido à grande quantidade presente deste ácido graxo em relação a outros óleos vegetais. Segundo estudos na literatura altos níveis de ácido oleico (69,58% a 78,55%) são encontrados (ALBUQUERQUE et al., 2005; BATAGLION et al., 2015; FREITAS et al., 2017; SERRA et al., 2019), e o fato de apresentar baixos teores de gordura poli-insaturada (5,98%) possibilita uma melhor estabilidade oxidativa (SILVA et al., 2009) do que outros óleos com alto grau de insaturações (PARDAUIL et al., 2017).

Em estudos apresentados na literatura e observados por Serra et al., (2019), relatam que os óleos podem apresentar variações das suas propriedades devido as condições

edafoclimáticas de cada região, além do método de extração que são submetidos, processamento e armazenamento.

3 I PRODUTOS CÁRNEOS

As carnes e os produtos cárneos possuem componentes essenciais como proteínas, gorduras, água além de minerais (FERNÁNDEZ-GINÉS et al., 2005) e de vitaminas principalmente do complexo B (OLIVEIRA et al., 2012). A fonte da matriz cárnea também altera a quantidade desses componentes como carne de avestruz é considerada uma boa alternativa por suas propriedades de baixo teor de colesterol e altos valores de ácidos graxos poli-insaturados (NASCIMENTO et al., 2012). O uso de carne de coelho tem potencial na produção de hambúrguer por possuir alto valor nutricional pelos aminoácidos essenciais, minerais (potássio, fósforo e magnésio) e foi considerado aceito sensorialmente, sendo então viável para comercialização (TAVARES et al., 2007).

Refere-se produtos ou derivados cárneos aqueles preparados parcial ou totalmente com carnes, miúdos ou gorduras, e insumos de origem vegetal ou animal como condimentos ou aditivos, podendo ser classificados de acordo com o produto cárneo: frescos (hambúrgueres e salsichas frescas), crus condimentados (peças inteiras adicionadas de especiarias, como o lombo suíno), tratados pelo calor (mortadelas, salsichas, presunto cozido), embutidos crus curados (salames, salames tipo fuet, chouriço, linguiças) e salgados (carnes retalhadas sob ação de salga, como o presunto curado ou *serrano*) (ORDOÑEZ et al., 2005).

Carnes processadas são definidas como as que foram alteradas por processos como salga, cura, defumação (BOUVARD et al., 2015) ou preparada com alterações nas estruturas e adição de insumos funcionais a fim de aprimorar sabores ou para sua conservação (JIANG; XIONG, 2016).

Os produtos cárneos podem ser reformulados substituindo ou eliminando compostos que são considerados prejudiciais ou também adicionando componentes que tragam benefícios à saúde pela qualidade nutricional, porém podem apresentar efeitos negativos na qualidade sensorial e físico-química, mas em proporções adequadas resulta em possíveis usos para a indústria (FERNÁNDEZ-GINÉS et al., 2005). Em pesquisa avaliada com consumidores de produtos processados reformulados em função da saudabilidade constata-se que a redução ou enriquecimento de constituintes como sal e/ou gordura tem influência positiva nas escolhas de intenção de compra e a percepção de saúde desses produtos (SHAN et al., 2017).

3.1 Substituição da gordura por constituintes saudáveis em produtos cárneos

Os consumidores de produtos cárneos vêm exigindo do mercado produtos que relacionam a uma dieta mais saudável com o objetivo reduzir ingredientes como gorduras e teores de sódio (PIRES et al., 2019; RIOS-MERA et al., 2019; TREVISAN et al., 2016; WEISS

et al., 2010), sem que ocorra mudanças sensoriais dos produtos tradicionais. As alterações e inovações no desenvolvimento desses produtos envolvem diminuição dos teores de sais, gorduras, colesterol, nitritos e calorias totais, e adição de compostos (carotenoides, gorduras insaturadas, ácidos, esteróis, fibras) e mudanças no perfil de ácidos graxos. É possível alcançar uma redução de gordura em produtos através de reformulações dos produtos, utilizando composição de carne mais magra, gordura vegetal ao invés de animal e em combinações tecnológicas permite que o perfil de gordura e concentrações sejam modificados (WEISS et al., 2010). O consumidor almeja por produtos e serviços que os façam se sentirem bem fisicamente, mentalmente e socialmente (MURPHY et al., 2004). Uma das tecnologias mais importantes e eficientes na reformulação de produtos cárneos com o objetivo de diminuir os ácidos graxos saturados, é a substituição parcial da gordura animal por óleos vegetais (HECK et al., 2018).

Devido ao alto conteúdo de colesterol e baixa qualidade nutricional, associada à elevação do risco de doenças cardiovasculares, a utilização de gordura animal nas preparações de produtos cárneos está cada vez menos aceita pelo consumidor.

Algumas pesquisas demonstram que é possível em medidas futuras da indústria da carne, modificar a ideia dos produtos cárneos tradicionais para uma nova visão de produtos mais saudáveis, através de incorporação de insumos considerados benéficos para a saúde como: extratos naturais de vegetais com propriedades antioxidantes, fibras, proteínas de soja, óleos vegetais, óleos de peixes e também reduzindo ou eliminando os que são considerados maléficos (gordura saturadas, aditivos artificiais e cloreto de sódio). Relatam também a preocupação com a saúde mostrando as possibilidades de desenvolvimento de produtos cárneos funcionais, utilizando compostos bioativos como: peptídeos derivados da proteína da carne, peptídeos anti-hipertensivos, probióticos, entre outros. Antioxidantes provenientes da extração de vegetais podem ser usados nestes produtos também como: ácidos fenólicos, flavonoides, quercetina e cumarinas, ou estarem nas matérias-primas utilizada tais como as vitaminas presente nas frutas, tocoferóis presente nas nozes ou nos óleos vegetais (ARIHARA, 2006; FERNÁNDEZ-GINÉS et al., 2005; FERNÁNDEZ-LÓPEZ; VIUDA-MARTOS; PÉREZ-ALVAREZ, 2021; JIANG; MONTEIRO et al., 2017; XIONG, 2016).

São estratégias tecnológicas que podem conferir melhora na estabilidade oxidativa das carnes e dos produtos cárneos (SHAHIDI, 2016), sem perder suas propriedades e mantê-lo no prazo de validade sendo comparado aos antioxidantes sintéticos (RIBEIRO et al., 2019).

3.2 Uso de emulsões em produtos cárneos

As emulsões são definidas com uma suspensão coloidal onde dois ou mais sistemas imiscíveis, se comportam dispersos um no outro através de um agente emulsificante, os tipos de emulsões podem ser óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) sendo um a fase dispersa, composta por partículas em forma de gotículas e outra a fase contínua onde as

gotículas encontram-se dispersas, nas emulsões tipo O/A a fase dispersa é o óleo e a fase contínua é o meio aquoso (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O uso de géis de emulsão é aplicável para reduzir gorduras ou melhorar a qualidade nutricional (PAGLARINI et al., 2018), tanto nas características em termos qualitativos quanto quantitativos (COFRADES et al., 2013; SANTOS et al., 2020), e ainda promover uma melhor distribuição uniforme na estrutura do produto (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O desenvolvimento de pré-emulsão com a utilização de colágeno em produtos reduzidos de gorduras pode auxiliar na estabilização das propriedades físicas evitando perda de rendimento no produto após cozimento (KIM et al., 2018), principalmente em produtos reestruturados e emulsionados aferindo efeitos tecnológicos nesses produtos (SHIMOKOMAKI et al., 2006). Como por exemplo o uso de óleos vegetais tem sido aplicadas em produtos cárneos para substituir a gordura suína em salsichas pré-emulsionada previamente e incorporada ao produto (ASUMING-BEDIAKO et al., 2014; BOLGER; BRUNTON; MONAHAN, 2018; WANG et al., 2018b), por emulsão contendo óleo vegetal como por exemplo o azeite de oliva e incorporada nas reformulações dos produtos (COFRADES et al., 2013) e óleogel rico em acido oleico advindo do óleo de girassol como substituto de gordura animal em salsichas (SILVA et al., 2019), géis de emulsão com óleo de canola, pele suína, inulina, polidextrose, α-ciclodextrina e fibra de bambu para aplicação em derivados cárneos (SANTOS et al., 2020).

Produto de carne bovina com substituição tanto de sal por algas, quanto de gordura suína por azeite em emulsão fornece quantidades de componentes minerais consideráveis, e o azeite proporciona melhor força de cisalhamento, aparência e suculência além da melhor qualidade nutricional final (LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2010).

Formulações com redução de gordura, substituição de gordura por óleo de canola com adição direta ou substituição através de pré-emulsão com óleo de canola e conteúdos proteicos não cárneos apresentam melhores resultados quando emulsionados e melhor qualidade lipídica no produto evitando grandes perdas por cozimento e proporcionando maior maciez em análise de força de cisalhamento da massa cárnea (MONTEIRO et al., 2017; YOUSSEF; BARBUT, 2011).

Emulsão com óleo de chia, extratos de semente de guaraná e folhas de pitanga aplicados em hambúrgures de cordeiro foram eficazes contra a oxidação de cor, lipídeos e proteínas, e uma melhora no perfil de ácidos graxos, além de não afetarem as características sensoriais do produto (CARVALHO et al., 2019). Uso de nanocelulose e óleo de palma em salsichas, resultaram em menores teores de gordura e perda de água por cocção, maiores teores de umidade e luminosidade e não apresentaram diferença na aceitabilidade global do produto, sendo forte alternativa para desenvolvimento de produto cárneo com redução de gordura (WANG et al., 2018b).

Observa-se em salsichas *frankfurter*, onde a substituição de gordura por óleo de girassol e fibras alimentares extraídas de makgeolli apresentaram alterações nos

parâmetros de cor (a* e b*) com menores valores no produto reformulado, porém melhora nas propriedades físico-químicas (viscosidade, estabilidade e força de cisalhamento) (CHOI et al., 2013). O uso de óleo de oliva emulsionado (JIMÉNEZ-COLMENERO et al., 2010), géis de emulsão com proteínas da soja e óleo de soja em salsichas *frankfurter* mostraram altas quantidades de proteínas, fibras, redução de gorduras saturada e altos conteúdos de gordura insaturada rica em ômega 3 (PAGLARINI; MARTINI; POLLONIO, 2019); óleo de linhaça em linguiças tipo bolonha apresentaram boas propriedades tecnológicas e aceitação sensorial (POYATO et al., 2014). Óleos de canola, linhaça, oliva e soja como substitutos em mortadelas apresentaram-se aplicáveis principalmente por não apresentar diferença significativa na oxidação lipídica no período de armazenamento (YUNES et al., 2013). Linguiça fermentada (chouriço de Pamplona) elaborada com óleo de oliva pré-emulsionado em proteína isolada de soja substituindo a gordura suína apresentou aumento de ácido oleico e linoleico, redução do teor de colesterol, indicando que é possível substituição em até 25% (MUGUERZA et al., 2001). Embutido cárneo com substituição de gordura animal por óleos de chia, linhaça e azeite mostraram melhoria no perfil de ácidos graxos e índices nutricionais aterogênicos (IA) e trombogênicos (IT) (CARVALHO et al., 2020).

Hsu; Yu, (2002), investigaram 11 tipos de óleos em substituição de gordura suína em almôndegas de carne suína, embora alguns tenham se apresentado com efeitos negativos diminuindo a cor, no geral, não houve mudanças nas propriedades de cisalhamento e encolhimento. Os óleos de coco, palma, soja, oliva e óleo de soja hidrogenado foram os melhores substitutos dentre os estudados. Choi et al., (2010), em estudo com alguns óleos vegetais (semente de uva, óleos de oliva, milho, canola e soja) emulsionados individualmente com fibra de farelo de arroz para substituição parcial (10%) de gordura suína em salsichas tipo *frankfurter*, apresentaram-se bem aceitos, havendo variações da composição de ácidos graxos para cada tipo de óleo presente e menores teores de colesterol quando comparados aos tradicionais. Barros et al., (2020), avaliaram o uso de emulsão com óleo de noz de tigre em substituição da gordura animal em hambúrgueres de carne bovina e não observaram modificações sensoriais da formulação convencional (dureza, coesão e mastigação), e obteve-se redução da gordura saturada e aumento dos ácidos graxos AGMI e AGPI, sendo o ácido oleico em maiores quantidades.

Estes autores sugerem que estes tipos de substituições podem contribuir no desenvolvimento de produtos com baixo teor de gordura, ainda possui propriedades almejadas como a redução de colesterol e ácidos graxos saturados (CHOI et al., 2010). e são estratégias promissoras para um estilo de produtos à base de carne mais saudável.

3.3 Carne reestruturada e hambúrgueres

Para Seideman e Durland (1983), a reestruturação se baseia em diminuir o tamanho dos pedaços de carne e então unificá-las novamente designando um formato semelhante a uma peça inteira de filé, buscando características físicas de carne integral, em especial a

textura que deve possuir similaridade aos cortes íntegros para boa aceitação do consumidor. De acordo com Mireles-Arriaga et al., (2017), as carnes restruturadas como as almôndegas e hambúrgueres são ótimas opções para a inclusão de insumos funcionais. No entanto, a substituição de componentes presentes nas diferentes formulações para produtos cárneos deve obedecer ao padrão de identidade e qualidade estabelecido em legislação (Tabela 3).

Características físico-químicas	
Gordura (máx)	23 %
Proteína (mín)	15 %
Carboidratos totais	3,0 %
Teor de cálcio (máx. base seca) *	0,1 %

Tabela 3. Padrão de Identidade e Qualidade para hambúrguer.

Fonte: Brasil, 2000. *0,45 % em hambúrguer cozido.

Os produtos cárneos possuem expressiva importância na alimentação cotidiana por conterem teores elevados de proteínas e por proporcionar equilíbrio no teor de aminoácidos (CARVALHO et al., 2019), possibilitando a substituição de insumos nos preparos de hambúrgueres por compostos que tragam propriedades nutricionais e saúde aos consumidores (OLIVEIRA et al., 2013).

Diante disso, formulações com uso de óleos vegetais podem se apresentar uma forma alternativa para os consumidores que tem interesse em reduzir a ingestão de gorduras saturadas e aumentar a proporção de lipídeos como os ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados que se apresentam com melhor qualidade nutricional para a dieta. Quando adicionados em produtos cárneos apresentam condições aprimoradas nas características físicas sem influenciar nas propriedades sensoriais e mostram efeitos benéficos nutricionalmente.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; ALCANTARA JR., P.; MOREIRA, S. G. C.; BARBOSA NETO, N. M.; CORREA, D. S.; ZILIO, S. C. Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa L.*) oil by absorption and emission spectroscopies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.16, n.6a, p.1113-1117, 2005.

AMORIM-CARRILHO, K. T.; CEPEDA, A.; FENTE, C.; REGAL, P. Review of methods for analysis of carotenoids. **Trend in Analytical Chemistry**, v.56, p.49-73, 2014.

AQUINO, J. S.; PESSOA, D. C. N. P.; ARAÚJO, K. L. G. V.; EPAMINONDAS, P. S.; SCHULER, A. R. P.; SOUZA, A. G.; STAMFORD, T. L. M. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa*) originated from the Brazilian cerrado: physicochemical, termal-oxidative and nutritional implications. **Journal Brazilian Chemists Society**, v.23, n.2, p.212-219, 2012.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática.** 6ª ed. Ed. UFV – Viçosa - MG: 2015.

ARIHARA, K. Strategies for designing novel functional meat products. **Meat Science**, v.74, p.219-229, 2006.

ASUMING-BEDIAKO, N.; JASPAL, M. H.; HALLETT, K.; BAYNTUN, J.; BAKER, A.; SHEARD, P. R. Effects of replacing pork backfat with emulsified vegetable oil on fatty acid composition and quality of UK-style sausages. **Meat Science**, v.96, p.187-194, 2014.

BARROS, J. C.; MUNEKATA, P. E. S.; CARVALHO, F. A. L.; PATEIRO, M.; BARBA, F. J.; DOMÍNGUEZ, R.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M. Use of tiger nut (Cyperus esculentus L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. **Foods**, v.9, n.44, p.2-15, 2020.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; SANTOS, J. M.; BARCIA, M. T.; GODOY, H.T.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Integrative approach using GC-MS and Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS) for comprehensive lipid characterization of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, n.26, p.171-177, 2015.

BENJAMIM, C. J. R.; ALCANTARA, G. C.; NOVAIS, P. L. C.; LOPES, J. N. S.; ROCHA, E. M. B. The consumption of omega 3 and 6 and its relationship with non-communicable chronic diseases. **Revista e-Ciência**, v.6, n.2, p.114-120, 2018.

BOLGER, Z.; BRUNTON, N. P.; MONAHAN, F. J. Impact of inclusion of flaxseed oil (pre-emulsified or encapsulated) on the physical characteristics of chicken sausages, **Journal of Food Engineering**, v.230, p.39-48, 2018.

BOUVARD, V.; LOOMIS, D.; GUYTON, K. Z.; GROSSE, Y.; GHISSASSI, F. E.; BENBRAHIM-TALLAA, L.; GUHA, N.; MATTOCK, H.; STRAIF, K. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. **Lancet Oncology** , v.16 n.16, p.1599-1600, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto, conforme consta dos anexos desta Instrução Normativa. D.O.U., 03/08/2000 – Seção 1.

BRAGAGNOLO, N. Aspectos comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. **Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína**, Concórdia. Anais, Concórdia, SC: Embrapa, p.393-402, 2002.

CALVO, P.; CASTANO, A.L.; HERNANDEZ, M.T.; GONZALEZ-GOMEZ, D. Effects of microcapsule constitution on the quality of microencapsulated walnut oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.113, p.1273-1280, 2011.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidante capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v.177, p.313-319, 2015.

CARDENO, A.; SANCHEZ-HIDALGO, M.; APARICIO-SOTO, M.; ALARCÓN-DE-LA-LASTRA, C. Unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil inhibits the inflammatory response in LPS-activated murine macrophages. **Food Chemistry**, v.147, p.117-123, 2014.

CARVALHO, L. T.; PIRES, M. A.; BALDIN, J. C.; MUNEKATA, P. E. S.; CARVALHO, F. A. L.; RODRIGUES, I.; POLIZER, Y. J.; MELLO, J. L. M.; LAPA-GUIMARÃES, J.; TRINDADE, M. A. Partial replacement of meat and fat with hydrated wheat fiber in beef burgers decreases caloric value without reducing the feeling of satiety after consumption. **Meat Science**, v.147, p.53-59, 2019.

CARVALHO, F. A. L.; MUNEKATA, P. E. S.; PATEIRO, M.; CAMPAGNOL, P. C. B.; DOMÍNGUEZ, R.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M. Effect of replacing backfat with vegetable oils during the shelf-life of cooked lamb sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v.122, 2020.

CERIANI, R.; PAIVA, F. R.; GONÇALVES, C. B.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES, A. J. A. Densities and viscosities of vegetable oils of nutritional value. **Journal of Chemical & Engineering**, v.53, n.8, p.1846-1853, 2008.

CHOI, Y. S.; CHOI, J. H.; HAN, D .J.; KIM, H. Y.; LEE, M. A.; JEONG, J. Y.; CHUNG, H. J.; KIM, C. J. Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. **Meat Science**, v.84, p.557-563, 2010.

CHOI, Y. S.; PARK, K. S.; KIM, H. W.; HWANG, K. E.; SONG, D. H.; CHOI, M. S.; LEE, S. Y.; PAIK, H. D.; KIM, C. J. Quality characteristics of reduced-fat frankfurters with pork fat replaced by sunflower seed oils and dietary fiber extracted from *makgeolli* lees. **Meat Science**, v.93, p.652-658, 2013.

CICERO, N.; ALBERGAMO, A.; SALVO, A.; BUA, G. D.; BARTOLOMEO, G.; MANGANO, V.; ROTONDO, A.; STEFANO, V. D.; BELLA, G. D.; DUGO, G. Chemical characterization of a variety of cold-pressed gourmet oils on the Brazilian Market. **Food Research International**, v.109, p.517-525, 2018.

COFRADES, S.; ANTONIOU, I.; SOLAS, M. T.; HERRERO, A. M.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. **Food Chemistry**, v.141, p.338-346, 2013.

COLOMBO, C. A.; BERTON, L. H. C.; DIAZ, B. G.; FERRARI, R. A. Macauba: a promising tropical palm for the production of vegetables oil. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v.25, n.1, p.1-9, 2018.

COSTA-SINGH, T.; BITENCOURT T. B.; JORGE N. Physical-chemical characterization of bioactive compounds of the oil from cutia nut (Couepia edulis). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.71 ,n.1, p.61-68, 2012.

COZZOLINO, R.; GIULIO, B. Application of ESI and MALDI-TOF MS for triacylglycerols analysis in edible oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.113, p.160-167, 2011.

DANTAS, M. B. **Biodiesel blends: flow properties, thermal and oxidative stability during storage and monitoring**. 2010. 138p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, 2010, João pessoa – PB, 2010.

DINICOLANTONIO, J. J.; OKEEFE, J. Importance of maintaining a low ômega-6/omega-3 ratio for reducing platelet aggregation, coagulation and thrombosis. **Open Herat**, v.6, e001011, 2019.

DORNI, C.; SHARMA, P.; SAIKIA, G.; LONGVAH, T. Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in **Índia**. **Food Chemistry**, v.238, p.9-15, 2018.

EL SOHAIMY, S. A. Functional foods and nutraceuticals-modern approach to food science. **World Applied Sciences Journal**, v.20, n.5, p.691-708, 2012.

FERNÁNDEZ-GINÉS, J. M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J .A. Meat products as functional foods: A review. **Journal of Food Science**, v.70, n.2, p.37-43, 2005.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. Quinoa and chia products as ingredients for healthier processed meat products: technological strategies for their application and effects on the final product. **Current Opinion in Food Science**, v.40, p.26-32, 2021.

FREITAS, M. L. F.; CHISTÉ, R. C.; POLACHINI, T. C.; SARDELLA, L. A. C. Z.; ARANHA, C. P. M.; RIBEIRO, A. P. B.; NICOLETTI, V. R. Quality characteristics and termal behavior of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. **Grasas y Aceites**, v.68, n.4, e220, 2017.

GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.87, n.3, p.645-648, 2007.

GHAZANI, S. M.; GARCÍA-LLATAS, G.; MARANGONI, A. G. Micronutrient contente of cold-pressed, hot-pressed, solvente extracted and RBD canola oil: Implications for nutrtion and quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.116, p.380-387, 2014.

GRESSHOFF, P. Soybean (Glycine max L). In: Hughes, S. M, editor. **Brenner's Encyclopedia of Genetics**. 2nd ed. San Diego: Academic Press. p.494-497, 2013.

HECK, R. T.; LUCAS, B. N.; SANTOS, D. J. P.; PINTON, M. B.; FAGUNDES, M. B.; ETCHEPARE, M. A.; CICHOSKI, A. J.; MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; WAGNER, R.; CAMPAGNOL, P. C. B. Oxidative stability of burgers containing chia oil microparticles enriched with rosemary by green-extraction techniques. **Meat Science**, v.146, p.147-153, 2018.

HSU, S. Y.; YU, S. H. Comparisons on 11 plant oil fat substitutes for low-fat kung-wans. **Journal of Food Engineering**, v.51, p.215-220, 2002.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, v.120, p.107-117, 2016.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; HERRERO, A.; PINTADO, T.; SOLAS, M. T.; RUIZ-CAPILLAS, C. Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. **Food Research International**, v.43, n.8, p.2068-2076, 2010.

KARACA, A. C.; LOW N.; NICKERSON, M. Encapsulation of flaxseed oil using a benchtop spray dryer for legume protein-maltodextrin microcapsule preparation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.21, p.5148-5155, 2013.

KEHRER, J. P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. **Critical Reviews in Toxicology**, v.23, n.1, p.21-48, 1993.

KIM, T. K.; HWANG, K. E.; SUNG, J. M.; PARK, J. D.; KIM, M. H.; JEON, K. H.; KIM, Y. B.; CHOI, Y. S. Replacement of pork back fat with pre-emulsion of wheat (*Triticum aestivum* L.) sprout and collagen and its optimization for reduced-fat patties. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.42, e13576, p.1-7, 2018.

KOUSHKI, M.; NAHIDI, M.; CHERAGHALI, F. Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil. **Journal of Paramedical Sciences**, v.6, n.3, p.117-134, 2015.

LIU, R.; LU, M.; ZHANG, T.; ZHANG, Z.; JIN, Q.; CHANG, M.; WANG, X. Evaluation of the antioxidant properties of micronutrients in different vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, p.1-8, 2019.

LOCKYER, S.; ROWLAND I. 10 - Authorised EU health claims for polyphenols in olive oil. In: SADLER, M. J. editor. **Foods, Nutrients and Food Ingredients with Authorised EU Health Claims.** Woodhead Publishing, Cambridge. p.212-228, 2014.

LÓPEZ-LÓPEZ, I.; COFRADES, S.; YAKAN, A.; SOLAS, M. T.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Frozen storage characteristics of low-salt and low-fat beef patties as affected by Wakame addition and replacing pork backfat with olive oil-in-water emulsion. **Food Research International**, v.43, p.1244-1254, 2010.

MANCINI, A.; IMPERLINI, E.; NIGRO, E.; MONTAGNESE, A. D.; ORRÙ, S.; BUONO, P. Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: Effects on health. ***Molecules***, v.20, p.17339-17361, 2015.

MANHÃES, L. R. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.4, p.856-863, 2011.

MATOS, A. P.; MATOS, A. C.; MOECKE, E. H. S. Polyunsaturated fatty acids and nutritional quality of five freshwater fish species cultivated in the western region of Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.22, e2018193, p.1-11, 2019.

MIRELES-ARRIAGA, A. I.; RUIZ-NIETO, J. E.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; JUÁREZ-ABRAHAM, M. R.; SANZÓN-GÓMEZ, D.; MENDOZA-CARRILLO, M. Functional restructured meat: Applications of ingredients derived from plants. **VITAE, Revista de la Faculdade de Ciência farmacéuticas y Alimentarias**, v.24, n.3, p.196-204, 2017.

MONTEIRO, G. M.; SOUZA, X. R.; COSTA, D. P. B.; FARIA, P. B.; VICENTE, J. Partial substituition of pork fat with canola oil in Toscana sausage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.44, p.2-8, 2017.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Fatty acids: a review. **Journal Brazilian Society Food Nutrtion**, v.24, p.105-123, 2002.

MUGUERZA, E.; GIMENO, O.; ANSORENA, D.; BLOUKAS, J. G.; ASTIASARÁN, I. Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lipid fraction and sensory quality of Chorizo de Pamplona - a traditional Spanish fermented sausage. **Meat Science**, v.59, n.3, p.251-258, 2001.

MURPHY, S. C.; GILROY, D.; KERRY, J. F.; BUCKLEY, D. J.; KERRY, J. P. Evaluation of surimi, fat and water content in a low/no added pork sausage formulation using response surface methodology. **Meat Science**, v.66, n.3, p.689-701, 2004.

NASCIMENTO, R. S.; FONSECA, A. B. M.; FRANCO, R. M.; MIRANDA, Z. B. Linguiças frescais elaboradas com carne de avestruz: características físico-químicas. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.184-188, 2012.

OLIVEIRA, R. R.; LAGE, M. E.; NETO, O. J. S.; SALES, M. C. Antioxidantes naturais em produtos cárneos. **PUBVET – Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.6, n.10, Ed. 197, Art. 1324, 2012.

OLIVEIRA, D. F.; COELHO, A. R.; BURGARDT, V. C. F.; HASHIMOTO, E. H.; LUNKES, A. M.; MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.16, n.3, p.163-174, 2013.

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J. VICHA, V.; R.; MLCEK, J. Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p.12871-12890, 2015.

OZYILDIZ, F.; KARAGONLU, S.; BASAL, G.; UZEL, A.; BAYRAKTAR, O. Micro-encapsulation of ozonated red pepper seed oil with antimicrobial activity and application to nonwoven fabric. **Letters in Applied Microbiology**, v.56, p.168-179, 2013.

PAGLARINI, C. S.; FURTADO, G. F.; BIACHI, J. P.; VIDAL, V. A. S.; MARTINI, S.; FORTE, M. B. S.; CUNHA, R. L.; POLLONIO, M. A. R. Functional emulsion gels with potential application in meat products. **Journal of Food Enginneering**, v.222, p.29-37, 2018.

PAGLARINI, C. S.; MARTINI, S.; POLLONIO, M. A. R. Using emulsion gels made with sonicated soy protein isolate dispersions to replace fat in frankfurters. **LWT – Food Science and Technology**, v.99, p.453-459, 2019.

PARDAUIL, J. J. R.; SOUZA, L. K. C.; MOLFETTA, F. A.; ZAMIAN, J. R.; FILHO, G. N. R.; COSTA, C. E. F. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian **área**. **Bioresource Technology**, v.102, p.5873-5877, 2011.

PARDAUIL, J. J. R.; MOLFETTA, F. A.; BRAGA, M.; SOUZA, L. K. C.; FILHO, G. N. R.; ZAMIAN, J. R.; COSTA, C. E. F. Characterization, termal properties and phase transitions of amazonian vegetable oils. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, v.127, p.1221-1229, 2017.

PEÑUELA-SIERRA, LINA MARIA.; CASTAÑEDA-SERRANO, ROMAN DAVID.; SANMIGUEL, R. A. Ácidos graxos poli-insaturados e ácido linoléico conjugado na carne suína. Benefícios para a saúde humana: Revisão. **PUBVET – Publicações em Medicina veterinária e Zootecnia**, v.9, n.7, p.337-347, 2015.

PEREIRA, E.; FERREIRA, M. C.; SAMPAIO, K. A.; GRIMALDI, R.; MEIRELLES, A. J. A.; MAXIMO, G. J. Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends. **Food Chemistry**, v.278, p.208-215, 2019.

PIRES, M. A.; SANTOS, I. R.; BARROS, J. C.; TRINDADE, M. A. Effect of replacing pork backfat with Echium oil on technological and sensory characteristics of bologna sausages with reduced sodium contente. **LWT – Food Science and Technology**, v.109, p.47-54, 2019.

POYATO, C.; ANSORENA, D.; BERASATEGI, I.; NAVARRO-BLASCO, I.; ASTIASARÁN, I. Optimization of a gelled emulsion intended to supply ω-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. **Meat Science**, v.98, p.615-621, 2014.

RADUNZ, M.; HACKBART, H. C. S.; RIBAS, B. L. P.; DOBKE, F. V.; RADUNZ, A.; MENDONÇA, C. R. B. Avaliação de parâmetros de qualidade de óleos exóticos. **Revista da Jornada da pós-graduação e pesquisa – Congrega Urcamp**, v.15, n.15, 2018.

RIBEIRO, M. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; RIUL, T. R.; PANTOJA, L.; MARINHO, H. A.; SANTOS, A. S. Influence of the extraction method and storage time on the physicochemical properties and carotenoid levels of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.2, p.386-392, 2012.

RIBEIRO, J. S.; SANTOS, M. J. M. C.; SILVA, L. K. R.; PEREIRA, L. C. L.; SANTOS, I. A.; LANNES, S. C. S.; SILVA, M. V. Natural antioxidants udes in meat products: A brief review. **Meat Science**, v.148 p.181-188, 2019.

RIOS-MERA, J. D.; SALDAÑA, E.; CRUZADO-BRAVO, M. L. M.; PATINHO, I.; SELANI, M. M.; VALENTIN, D.; CONTRERAS-CASTILHO, C. J. Reducing the sodium content without modifying the quality of beef burgers by adding micronized salt. **Food Research International**, v.121, p.288-295, 2019.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avanços na pesquisa de carotenoides em alimentos: contribuições de um laboratório brasileiro. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.63, n.2, p.129-138, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nomenclature, structures, and physical and chemical properties. **Food Carotenoids: Chemistry, Biology, and Technology**, 1ª ed. 23p. 2016a.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. R. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v.7, p.20-26, 2016b.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. **Meat Science**, v.90, p.106-115, 2012.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.53-60, 2007.

ROMAN, O.; HEYD, B.; BROYART, B.; CASTILLO, R. MAILLARD, M. N. Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils subjected to heat treatment, under controlled conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 52, p.49-59, 2013.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effects of genotype, feeding system and slaughter weigt on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v.77, n.2/3, p.187-194, 2002.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; RUÍZ-MÉNDEZ, M. V. Minor componentes in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v.64, n.5, p.531-536, 2013a.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI, R., LOTTENBERG, A. M. P. & RAMOS, S. Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde vascular. **Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v.100, n.1, p.1-40 2013b.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas y Aceites**, v.66, n.3, e086, 2015.

SANTOS, R. C.; CHAGAS, E. A.; FILHO, A. A. M.; TAKAHASHI, J. A.; MONTERO, I. F.; SANTOS, G. F.; CHAGAS, P. C.; MELO, A. C. G. R. Chemical characterization of oils and fats from Amazonian fruits by HNMR. **Chemical Engineering Transactions**, v.64, p.235-240, 2018.

SANTOS, M.; OZAKI, M. M.; RIBEIRO, W. O.; PAGLARINI, C. S.; CAMPAGNOL, P. C. B.; POLLONIO, M. A. R. Emulsion gels based on pork skin and dietary fibers as animal fat replacers in meat emulsions: An adding value strategy to byproducts, **LWT - Food Science and Technology**, v.120, 2020.

SCHWENKE, D. Antioxidants and atherogenesis. **Journal Nutritional Biochemistry**, v.9, p.424-445, 1998.

SEIDEMAN, S. C.; DURLAND, P. R. Restructured red meat products: In review. **Journal of Food Quality**, v.6, p.81-101, 1983.

SERRA, J. L.; RODRIGUES, A. M. C.; FREITAS, R. A.; MEIRELLES, A. J. A.; DARNET, S. H.; SILVA, L. H. M. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v.116, p.12-19, 2019.

SHAHIDI, F. Oxidative stability and shelf life of meat and meat products. **AOCS**, p.373-389, 2016.

SHAN, L. C.; BRÚN, A.; HENCHION, M.; LI, C.; MURRIN, C.; WALL, P. G.; MONAHAN, F. J. Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier – A conjoint analysis study. **Meat Science**, v.131, p.82-89, 2017.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. 201p., São Paulo: Varela, 2006.

SILVA, S. M.; SAMPAIO, K. A.; TAHAM, T.; ROCCO, S. A.; CERIANI, R. MEIRELLES, A. J. A. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the brazilian amazon region. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.86, p.611-616, 2009.

SILVA, S. L. S.; AMARAL, J. T.; RIBEIRO, M.; SEBASTIÃO, E. E.; VARGAS, C.; FRANZEN, F. L.; SCHNEIDER, G.; LORENZO, J. M.; FRIES, L. L. M.; CICHOSKI, A. J.; CAMPAGNOL, P. C. B. Fat replacement by oleogel rich in oleic acid and its impact on the technological, nutritional, oxidative, and sensory properties of Bologna-type sausages. **Meat Science**, v.149, p.141-148, 2019.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56, p.365-379, 2002.

SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos: Estrutura, classificação, nutrição e saúde. **Arquivos APADEC – Associação Paranaense para o Desenvolvimento do Ensino da Ciência**, v.2, n.2, p.102-107, 1998.

SPERANZA, P.; FALCÃO, A. O.; MACEDO, J. A.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; MACEDO, G. A. Amazonian buriti oil: chemical characterization and antioxidante potential. **Grasas y Aceites**, v.67, n.2, e135, 2016.

SPERANZA, P.; LEÃO, K. M. M.; GOMES, T. S. N.; REIS, L. V. C.; RODRIGUES, A. P.; MACEDO, J. A.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, G. A. Improving the chemical properties of Buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) by enzymatic interesterification. **Grasas y Aceites**, v.69, n.4, e282, 2018.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A.; TROKOWSKI, K.; KARLOVITS, G.; SZŁYK, E. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. **Food Chemistry**, v.129, p.1187-1192, 2011.

TAVARES, R. S.; CRUZ, A. G.; OLIVEIRA, T. S.; BRAGA, A. R.; REIS, F. A.; HORA, I. M. C.; TEIXEIRA, R. C.; FERREIRA, E. F. Processamento e aceitação sensorial do hambúrguer de coelho (*Orytolagus cunicullus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.3, p.633-636, 2007.

TRENTINI, C. P.; OLIVEIRA, D. M.; ZANETTE, C. M.; SILVA, C. Low-pressure solvente extraction of oil from macaúba (*Acrocomia aculeata*) pulp: characterization of oil and defatted meal. **Ciência Rural**, v.46, n.4, p.725-731, 2016.

TREVISAN, Y. C.; BIS, C. V.; HENCK, J. M.; BARRETTO, A. C. S. Efeito da adição de fibra de aveia sobre as propriedades físico-químicas de hambúrguer cozido e congelado com redução de gordura e sal. **Brazilian Journal of Food Technology,** v.19, 2016.

WANG, J.; WANG, Y.; ZHENG, L.; NI, S.; FAN, Z.; YAO, R.; CHEN, K. Kinetic study on extraction of red pepper seed oil with supercritical CO2. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v.22, p.44-50, 2014.

WANG, S.; YANG, R.; LI, H.; JIANG, J.; ZHANG, L.; ZHANG, Q.; LI, P. Evaluation and comparison of in vitro antioxidante activities of unsaponifiable fraction of 11 kinds of edible vegetable oils. **Food Science & Nutrition**, p.1-8, 2018a.

WANG, Y.; WANG, W.; JIA, H.; GAO, G.; WANG, X.; ZHANG, X.; WANG, Y. Using Cellulose Nanofibers and Its Palm Oil Pickering Emulsion as Fat Substitutes in Emulsified Sausage. **Journal of Food Science**, v.6 p.2355-2362, 2018b.

WEISS, J.; GIBIS, M.; SCHUH, V.; SALMINEN, H. Advances in ingrediente and processing systems for meat and meat produts. **Meat Science**, v.86, p.196-213, 2010.

WEN, X.; ZHU, M.; HU, R.; ZHAO, J.; CHEN, Z.; LI, J.; NI, Y. Characterisation of seed oils from different grape cultivars grown in China. **Journal of Food Science & Technology**, v.53, n.7, p.3129-3136, 2016.

WIJENDRAN, V.; HAYES, K. C. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. **Annual Review of Nutrition**, v.24, p.597-615, 2004.

WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I.; NUTE, G. R.; FISHER, A. V.; CAMPO, M. M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P. R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v.66, p.21-32, 2004.

XU, F.; SHI, A. M.; LIU, H. Z.; LIU, L.; WANG, Q. The content components of fatty acids and endogenous antioxidant of walnut oil and their correlation with oxidative stability index. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v.31, p.53-58, 2016.

YANG, C. Y.; LIU, X. M.; CHEN, Z. Y.; YANG, R. L.; LIN, Y. S.; ZHAO, X. L. Determination of phytosterols of fourteen edible vegetable oils by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v.28, p.123-128, 2013.

YUNES, J. F. F.; CAVALHEIRO, C. P.; MILANI, L. I. G.; SCHEEREN, M. B.; BLAZQUEZ, F. J. H.; BALLUS, C. A.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Efeito da substituição da gordura suína por óleos vegetais nas características de qualidade, estabilidade oxidativa e microestrutura de mortadela. **Ciências Agrárias**, v.34, n.3, p.1205-1216, 2013.

YOUSSEF, M. K.; BARBUT, S. Fat reduction in comminuted meat products-effects of beef fat, regular and pre-emulsified canola oil. **Meat Science**, v.87, p.356-360, 2011.

ZAHIR, E.; SAEED, R.; HAMEED, M. A.; YOUSUF, A. Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, p.S3870-S3876, 2017.

CAPÍTULO 13

EVALUATION OF TWO TOXIN BINDERS EFFECTIVNESS IN REDUCING ZEARALENONE TOXIC EFFECTS ON GILTS

Data de aceite: 01/11/2021

José Antonio Fierro
Department of Toxicology, NUTEK S.A. de C.V.1; Sanfer Salud Animal S.A 2. 7 Norte 416. Tehuacán, Pue. 75700 México

Juan Carlos Medina
Department of Toxicology, NUTEK S.A. de C.V.1; Sanfer Salud Animal S.A 2. 7 Norte 416. Tehuacán, Pue. 75700 México

Luis Miguel Dong
Nutritional Feed Additives, SANFER Animal Health S.A. de C.V.

Elizabeth Rodríguez
Department of Toxicology, NUTEK S.A. de C.V.1; Sanfer Salud Animal S.A 2. 7 Norte 416. Tehuacán, Pue. 75700 México

ABSTRACT: Zearalenone (ZEA), a mycotoxin recognized with estrogenic effects, has a contaminant prevalence in corn, sorghum and wheat, mainly being produced by fungi: *Fusarium graminearum*, and other species such as *culmorum and tricintum*. Zearalenone effects are estrogenic. Being swine one of the most sensitive animals. Gilts often present hyperestrogenism and manifest as vulvovaginitis and mammary glands enlargement. The objective of this study was to assess ZEA toxic effects in gilts, during 52 days period, consuming naturally contaminated feed, using 1200 ppb levels (ZEA) and verify two commercial toxin binders efficiency to reduce their potential detrimental effects. 24 recently weaned gilts were selected; first seven days were for adaptation, then each gilt was assigned within one of the four experimental groups identified as: 1) control diet without ZEA, 2) positive control diet with 1,200 ppb of ZEA, 3) challenge diet with 1,200 ppb of ZEA and 1.5 kg / t of organoaluminosilicate, 4) challenge diet with 1,200 ppb of ZEA and 1.5 kg / t of Aluminosilicate + yeast cell walls. The obtained information was analyzed through the statistical software SYSTAT, by the Tukey test where the difference of means was defined. The significance value was based on a $p < 0.05$. There were statistically significant differences in reproductive tract weight and length, vulva volume and cervix width between treatments.

KEYWORDS: Zearalenone, gilts, reproduction, organoaluminosilicate, yeast cell walls, vulvovaginitis, hyperestrogenism, toxin binders.

RESUMO: A zearalenona (ZEA), micotoxina reconhecida com efeitos estrogênicos, tem prevalência de contaminantes no milho, sorgo e trigo, sendo produzida principalmente pelos fungos: Fusarium graminearum, e outras espécies como culmorum e tricintum. Os efeitos da zearalenona são estrogênicos. Sendo suíno um dos animais mais sensíveis. As porcas freqüentemente apresentam hiperestrogenismo e se manifestam como vulvovaginite e aumento das glândulas mamárias. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos tóxicos da ZEA em marrãs, durante 52 dias, consumindo ração naturalmente contaminada, utilizando níveis de 1200 ppb (ZEA) e verificar a eficiência de dois ligantes

de toxinas comerciais para reduzir seus potenciais efeitos prejudiciais. 24 marrãs recém-desmamadas foram selecionadas; os primeiros sete dias foram para adaptação, então cada porca foi designada dentro de um dos quatro grupos experimentais identificados como: 1) dieta controle sem ZEA, 2) dieta controle positivo com 1.200 ppb de ZEA, 3) dieta de desafio com 1.200 ppb de ZEA e 1,5 kg / t de organoaluminossilicato, 4) dieta de desafio com 1.200 ppb de ZEA e 1,5 kg / t de Aluminossilicato + paredes celulares de levedura. As informações obtidas foram analisadas por meio do software estatístico SYSTAT, pelo teste de Tukey onde foi definida a diferença de médias. O valor de significância foi baseado em p <0,05. Houve diferenças estatisticamente significativas no peso e comprimento do trato reprodutivo, volume da vulva e largura do colo do útero entre os tratamentos.
PALAVRAS-CHAVE: Zearalenona, marrãs, reprodução, organoaluminossilicato, paredes celulares de levedura, vulvovaginite, hiperestrogenismo, aglutinantes de toxina.

INTRODUCTION

Mycotoxins contamination is a problem with serious repercussions, both economic and health, human and animal. The United States Council on Science and Technology (CAST, 2003) reported that mycotoxins have caused annual economic losses of $932 million dollars averaged, and reported 25% of crops worldwide to be contaminated with fungi capable to produce mycotoxins. Most of mycotoxins that are considered to be important are produced by three fungi genera (*Aspergillus, Fusarium and Penicillium*); also mention mycotoxins produced by the *Claviceps* fungi and those becoming increasingly important in human health that are mycotoxins produced by *Stachybotrys* fungi. Zearalenone (ZEA) is a mycotoxin reported with estrogenic effects, usually prevalent in corn, wheat and sorghum. The main producing fungi is *Fusarium graminearum*, although other species also produce it, such as *culmorum* and *tricintum*, optimal production conditions consist in low temperatures and high levels of humidity, considered as fall mycotoxin produced in the field, before harvest. The estrogenic effects of zearalenone are manifested in the urogenital system, swine are considered to be the most sensitive animal species, particularly in weaning piglets, gilts and sows. Lesions are expressed as vulvovaginitis and enlargement of the mammary glands and reproductive tract. It has been reported that 1 ppm is enough to produce in gilts hiperestrogenism (Kurtz and Mirocha 1978). Sever cases conduce in vaginal and rectal prolapse. (Cast, 2003).

Chemical methods that have been used to reduce mycotoxin contamination have no practical effect in the livestock industry. Grain cleaning is recommended, however, partially reduce contamination. Aluminosilicates inclusion has not shown to be efficient in reducing ZEA problem, reason why, many different types of mixtures of aluminosilicates with organic compounds have been developed (high molecular weight polymers, enzymes, enzymeproducing microorganisms, cell wall polymers), However, available

products in the market with such compound have shown different drawbacks against ZEA. (Research & Marketing press 2020).

Therefore, another alternative is the development of partially substituted organoaluminosilicates, which are chemical compounds formed through reaction of specific aluminosilicates with organic compounds, adsorption capacity increase, due that is based on the ability to adsorb polar and less -polar compounds, as the case with ZEA. An additional feature of these adsorbents is that they are harmless and can easily incorporated into finished foods. Mallmann et al., 2005; Fierro et al., 2005-2006, demonstrated the effectiveness of a commercial organoaluminosilicate (completely substituted) in gilts, intoxicated with 2,000 ppb of ZEA. It is also mentioned that esterified glucomannan-based low inclusion level mycotoxin adsorbent products based with yeast cell walls (Saccharomyces cerevisiae) designed to adsorb a wide range of mycotoxins and act rapidly. Its use in all species is a powerful tool to limit the negative effects when consumption of ingredients naturally contaminated with mycotoxins that can affect animals. Therefore, it is necessary to evaluate them and demonstrate their proven effectiveness in ZEA control.

OBJECTIVE

Evaluate ZEA toxic effects in gilts and the efficiency of two toxin binders to reduce ZEA bioavailability during 52 days' trail period.

MATERIAL AND METHODS

Twenty-four recently weaned sows were selected and placed in individual pens. First seven days were for adaptation. Subsequently, each animal was assigned within one of the four experimental diets, identified as: 1) control diet, without ZEA, 2) intoxication diet with ZEA, 1200 ppb, 3) challenge diet with 1200 ppb of ZEA plus 1.5 kg / organoaluminosilicate (Nutek 2020) 4) challenge diet with 1200 ppb of ZEA plus 1.5 kg / Commercial Patented Aluminosilicate + yeast cell walls product classified as CPA+Y. (Alltech 2020).

At the beginning all gilts were weighed (28 days old) individual weight was recorded every week, until the end of the experiment. Because ZEA estrogenic effects manifests vulva inflammation and redness, and growth in reproductive organs, these parameters were considered to measure ZEA toxicity, feed conversion was calculated weekly, as well, vulva (length x width x depth). Environmental and all animal health conditions were recorded daily.

All sows were euthanized and the reproductive system was removed to measure its dimensions, length, width and weight, including the weights of the vulvas. The percentage of the weight of the reproductive tract in relation to the weight of the animal

was calculated. Reproductive tract samples were obtained for histopathological tests o and if organs were observed with some damage, lesion were recorded.

The obtained information was analyzed through the statistical software SYSTAT, by the Tukey test where the difference of means was defined. The significance value was based on a $p < 0.05$.

Treatment	Organoaluminosilicate (kg/t)	CPA+Y (kg/t)	Zearalenone (mg/kg)
Negative Control	0	0	0
Positive Control	0	0	1,170
organoaluminosilicate	1.5	0	1,200
CPA+Y	0	1.5	1,150

Table No 1. Experimental treatments.

RESULTS AND DISCUSSION

Macroscopically, ZEA toxic effects were observed between treatments, vulva and the reproductive tract increased for some treatments, but not in the negative control group. There were statistically significant differences in the percentage of the weight of the reproductive tract, vulva and reproductive tract length; cervix width and vulva volume (Table 2 and 3). Regarding the productive parameters such as weight gain, feed conversion and feed consumption (Table 5), there were no statistically significant differences among treatments for uterus and uterine horns, only numerical (Table 4),

Histopathological analyzes showed ZEA effects in animals within positive treatments, and as expected in the control group, no effect was observed.

Treatment	Reproductive tract % weight in relation to animal weight.	Vulva % weight in relation to the weight of the animal
	Mean ± S.E	Mean ± S.E
Negative Control	1.12 ± 0.172 [a]	0.241 ± 0.028 [a]
Positive Control	2.34 ± 0.196 [b]	0.465 ± 0.047 [ab]
organoaluminosilicate	1.87 ± 0.179 [ab]	0.401 ± 0.006 [ab]
CPA+Y	2.43 ± 0.382 [b]	0.620 ± 0.101 [b]

Table 2: Relative weights of the reproductive tract and vulva.

Means with different letters are statistically significant for $p < 0.05$.

Treatment	Reproductive tract length	Vulva Volume (1000*cm^3/kg)	Cervix width
	Mean ± S.E	Mean ± S.E	Mean ± S.E
Negative Control	22 ± 1.40 ^{a}	0.100 ± 0.017 ^{a}	1.8 ± 0.216 ^{a}
Positive Control	28.1 ± 1.13 ^{b}	0.620 ± 0.057 ^{b}	2.9 ± 0.150 ^{b}
organoaluminosilicate	24.3 ± 1.11 ^{ab}	0.563 ± 0.074 ^{b}	2.2 ± 0.132 ^{ab}
CPA+Y	28.5 ± 1.77 ^{b}	0.864 ± 0.189 ^{b}	2.9 ± 0.229 ^{b}

Table 3: Reproductive tract scores.

Means with different letters are statistically significant for $p < 0.05$.

Treatment	Uterus Width	Uterine horns Length
	Mean ± S. E	Mean ± S. E
Negative Control	1.5 ± 0.202 ^{a}	37.5 ± 1.89 ^{a}
Positive Control	2.0 ± 0.309 ^{a}	50.0 ± 6.42 ^{a}
organoaluminosilicate	1.6 ± 0.075 ^{a}	39.3 ± 3.30 ^{a}
CPA+Y	2.1 ± 0.160 ^{a}	51.4 ± 3.26 ^{a}

Table 4: reproductive tract dimensions II.

Means with different letters are statistically significant for $p < 0.05$.

Treatment	Weight gain (kg)	Feed Conversion	Feed intake (kg)
	Mean ± S. E	Mean ± S. E	Mean ± S. E
Negative Control	30,466 ± 1003 ^{a}	1.87 ± 0.055 ^{a}	56,717 ± 1319 ^{a}
Positive Control	30,113 ± 1192 ^{a}	1.89 ± 0.059 ^{a}	56,508 ± 1285 ^{a}
organoaluminosilicate	30,793 ± 1186 ^{a}	1.81 ± 0.036 ^{a}	55,492 ± 1621 ^{a}
CPA+Y	31,405 ± 781 ^{a}	1.80 ± 0.027 ^{a}	56,458 ± 1409 ^{a}

Table 5: Productive Parameters.

Means with different letters are statistically significant for $p < 0.05$.

CONCLUSION

The efficiency of organoaluminosilicate product, calculated based on its capacity to

reduce the increase of the relative weight of the reproductive tract, was 61.5%. Otherwise, in the case of product composed of Aluminosilicate plus yeast cell walls (CPA+Y), the relative weight of the reproductive tract has an significant increase, which means that its efficiency was zero percent. The organoaluminosicate showed effectiveness, unlike yeast wall-based products, and has proven to be a secure option against ZEA prevalent in many food and feed ingredients.

BIBLIOGRAPHY

CAST (Council for Agricultural Science and Technology). 2003. Mycotoxins: Risk in Plant, Animal, and Human Systems. Task Force Report No. 139. Ames, Iowa, USA.

Alltech. Mycotoxin Management (knowmycotoxins.com). 2020. Patented formula. Ingredient description as cited Https://www2.knowmycotoxyns.com/es/mycosobr.

Europe Mycotoxin Detoxifiers Market - Growth, Trends, and Forecast (2020 - 2025)

Research & Marketing press 2020.

Fierro, J. A., Medina, J. C. Parámetros productivos y morfología de genitales en cerdas pre-púberes intoxicadas con 1,000 ppb de zearalenona. 2005. XL Congreso de la asociación mexicana de veterinarios especialistas en cerdos, AMVEC. León, Guanajuato.

Fierro, J. A., Medina, J. C., Pérez, R., Duran, L. y Rodríguez, E. 2006. Reducción de los efectos de las Aflatoxinas, zearalenona, Ocratoxina A y tricotecenos con la incorporación de adsorbentes de micotoxinas en alimentos balanceados: alcances y limitaciones. Memorias del V congreso latinoamericano de micotoxicología. Florianópolis. SC. Brasil.

Hagler, W. M. Jr., N. R. Towers, C. J. Mirocha, R. M. Eppley, and W. L. Bryden. 2001. Zearalenone: Mycotoxin or mycoestrogen? Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minnesota. Pp. 321-331.

Kurtz, H. J. and C. J. Mirocha. 1978. Zearalenone (F2) induced estrogenic syndrome in swine. Pp 1256-1264. In T. D. Wyllie and L. G. Morehouse (Eds.) Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses. Vol. 2. Marcel Dekker, Inc., New York.

Mallmann, C. A., Lovatto, P. A., Dilkin, P., Almeida, C. A., Giacomini, L. e Rauber, R.H. 2005. Avaliação de adsorvente zeotek frente a intoxicação por zearalenona em suínos. Universidad Federal de Santa Maria, Rio Grande Do Sul, Brasil

CAPÍTULO 14

LIPASE B FROM *CANDIDA ANTARCTICA*: ACTIVITY AND STABILITY STUDIES IN DIFFERENT PH AND TEMPERATURES

Data de aceite: 01/11/2021

Mirian Cristina Feiten
Departamento de Engenharia de Alimentos e Tecnologia de Alimentos
Universidade Estadual de Maringá (UEM), Umuarama, PR, Brasil

ABSTRACT: Lipase B from *Candida antarctica* (CalB) is one of the most largely employed biocatalysts for the synthesis of chiral fine chemicals in the food, cosmetic, pharmaceutical and chemical industries. In this research work, a commercial CalB was characterized by differential scanning fluorimetry (DSF) and its activity was analyzed in pH 4.8, 7.5 and 9.2, and at 30 and 60 ºC. Results show that CalB is not active in acidic pH at any temperature and is more active in basic pH compared to neutral pH, and slightly more active when previously activated at 65ºC for 1 hour. DSF analysis indicated that CalB is more thermostable in high pH buffers (around 9), with maximum T_m in 50 mM TrisHCl pH 8.4. Such evidences may be useful for CalB industrial application under specific conditions so that the lipase hydrolytic activity is maximized.
KEYWORDS: CalB; activity; stability; pH; temperature.

LIPASE B DE *CANDIDA ANTARCTICA*: ESTUDOS DE ATIVIDADE E ESTABILIDADE EM DIFERENTES PHS E TEMPERATURAS

RESUMO: A lipase tipo B de *Candida antarctica* (CalB) é um dos biocatalisadores mais amplamente empregados na síntese de compostos quirais finos nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêuticas e químicas. Neste trabalho de pesquisa, CalB adquirida comercialmente foi caracterizada por Fluorimetria Diferencial de Varredura (DSF) e sua atividade foi analisada nos pHs 4,8, 7,5 e 9,2, e nas temperaturas de 30 ºC e 60 ºC. Os resultados mostram que a CalB não é ativa em pH ácido em qualquer das temperaturas investigadas, é mais ativa em pH básico comparado ao pH neutro, e pouco mais ativa quando pré-incubada em 65 ºC por 1 hora. As análises de DSF indicam que a CalB é mais termoestável em tampões de pH básicos (em torno de 9), com T_m máxima em tampão TrisHCl 50 mM pH 8,4. Estes resultados podem ser úteis para a aplicação industrial da CalB em condições específicas nas quais sua atividade hidrolítica é maximizada.
PALAVRAS-CHAVE: CalB; atividade; estabilidade; pH; temperatura.

1 I INTRODUCTION

Enzymes are delicate structures, maintained by interactions inside the protein chain (determined by the amino acid sequence) and the protein-solvent interactions. Changes in factors, such as pressure, temperature, ionic

strength, pH, shear stress and solvent hydrophobicity can affect the enzyme structure and, therefore, its activity, stability and specificity, properties that depend on the enzyme three-dimensional structure (Scriban, 1985; Lehninger et al., 1995; Lima et al., 2001).

Lipase B from *C. antarctica* (CalB) is one of the biocatalysts most used in organic synthesis in the food, cosmetic, pharmaceutical and chemical industries, and presents huge industrial applicability mainly due to its high activity, wide substrate specificity, ability to act in several substrates, tolerance to non-aqueous environment and resistance to thermal deactivation (McCabe & Taylor, 2004; Lutz, 2004; Veld, 2010; Melgosa et al., 2015; Silvestrini and Cianci, 2020). Its high activity, stability and stereoselectivity, wide substrate specificity and enantioselectivity make CalB superior to other lipases in biotransformation processes (Raza et al., 2001; Jun et al, 2013; Park et al., 2016).

CalB is an α/β hydrolase, composed by 317 amino acids, arranged in 10 α-helices and 9 β-sheets (Uppenberg et al. 1994a; 1994b; 1995). It is an extracellular enzyme commercially available in a sorbitol-based solution (CALB L®).

Because of the importance of CalB in organic synthesis, especially for the kinetic resolution of racemates, numerous approaches have been used to optimize the catalytic activity, specificity, selectivity and stability of CalB (Wescott and Klibanov, 1994; Fernandez-Lafuente et al., 1998; Ottosson et al., 2002; Piyatheerawong et al., 2004; Blank et al., 2006; Trodler and Peiss, 2008; Skjøt et al., 2009; Quian et al., 2009; Ferrarrio et al., 2011; Cipolatti et al., 2014, Xie et al., 2014; Nicoletti et al., 2015; Valério et al., 2015; Melgosa et al., 2015; Cen et al., 2019).

Many factors can influence protein stability, such as buffers (chemical composition as well as pH); salts; detergents, whose interactions with the protein are non-specific; and ligands, which bind proteins at specific sites. Temperature is another factor that substantially affects the enzyme activity. The temperature increase can denature the enzyme, characterizing the loss of the native conformation and modification of the tertiary and quaternary structure, resulting in no longer activity of the enzyme. A slight modification of the active site conformation can lead to the complete loss of catalytic activity of some enzymes (Scriban, 1985; Belitz and Grosch, 1997).

Thus, this work aimed at investigating the behavior of a commercial enzyme of great industrial interest, CalB, under different temperatures, pH and buffer compositions, as well as characterizing the lipase by differential scanning fluorimetry.

2 I MATERIAL AND METHODS

2.1 Materials

Lipase B from *Candida antarctica* (CalB), theoretical molar mass of 33 kDa, produced by Novozymes, was purchased from Sigma-Aldrich, recombinant, expressed in *Aspergillus niger*, in aqueous solution. Lipase substrate 4-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) (98%) was

purchased from Sigma-Aldrich. All chemicals and buffers used for measurements were of analytic grade.

2.2 Lipase Purification

CalB was purified via size exclusion chromatography (SEC) column (Superdex® 75, 26/60) using 0.02 M sodium phosphate buffer pH 7.5 and 0.1 M sodium chloride. The column characteristics were internal diameter of 26 mm, length of 60 cm, matrix composed of dextran and cross-linked agarose, particle size of 34 μm, maximum flow rate of 2.6 mL/min (maximum pressure of 0.3 MPa), molar mass range between $3x10^3$ and $7x10^5$ Da and bed volume of 320 mL (GE Healthcare, 28-9893-34). For each single purification, 5 mL of CalB were loaded in the column at a flow rate of 2 mL/min at 4 °C using an Äkta purifier system. Aliquots of 2 mL were collected and fractions were analyzed by SDS-PAGE and then concentrated to 10 mg/mL with the NanoDrop® 2000 Spectrophotometer (Peqlab).

2.3 Hydrolysis activity

CalB activity was measured by hydrolysis of the synthetic substrate 4-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) (Chiou and Wu, 2004). Typically, an aliquot of 0.1 mL of lipase solution is added to 1 mL of 0.05 M sodium phosphate buffer pH 7, and then to 1 mL of substrate alcoholic solution (*p*-NPP 0.5% dissolved in absolute ethanol). The reaction mixture was incubated in a water bath at 30 ºC for 5 minutes. Then the reaction was stopped by adding 2 mL of sodium carbonate 0.5 N, following by centrifugation at 3500 rpm (maximum 2800 xg) for 10 minutes. Afterwards, an aliquot of 0.1 mL of the supernatant was diluted in 9 mL of sodium phosphate buffer and the absorbance enhancement induced by the release of *p*-nitrophenol from the *p*-NPP hydrolysis was measured with a spectrophotometer (UltrospecTM 3100 *pro*, Amersham Biosciences) at 410 nm wavelength.

2.4 Influence of temperature and Ph

In order to investigate the CalB activity behavior in different pH and temperatures from those used for the standard hydrolysis activity assay, several tests in pH 4.8, 7.5 and 9.2, and at 30 and 60 ºC, were performed. CalB activity was measured varying the temperature of incubation, the temperature of activity assay incubation, and the enzyme buffer. 0.05 M buffers were prepared: citric acid/trisodium citrate buffer pH 4.8, sodium phosphate buffer pH 7.5 and sodium carbonate/sodium bicarbonate buffer pH 9.2.

2.5 Differential Scanning Fluorimetry

Different buffer compositions and compounds were tested for their stabilizing effect on CalB. DSF experiments were carried out in a 96-well plate in a plate reader combined with a thermocycler (Stratagene Mx3005P, Agilent Technologies). All 96 conditions (compounds and compositions) tested are listed in Table 1. SEC purified CalB was diluted to 0.15 mg/mL in the final purification buffer supplemented with 10×SYPRO orange (1:500 dilution of the stock) in a total volume of 10 µL and pipetted into each well of a 96-well

plate. The temperature was increased from 25 °C to 95 °C and the fluorescence emission was monitored in steps of 1 °C/min with hold steps of 30 seconds between reads. The fluorescence intensity was then plotted as a function of temperature.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	50 mM NaAcetate pH 4.0	50 mM NaAcetate pH 4.4	50 mM NaCitrate pH 5.0	50 mM NaCitrate pH 5.4	50 mM NaCacodylate pH 6.0	50 mM NaCacodylate pH 6.4	50 mM NaPhosphate pH 7.0	50 mM NaHEPES pH 7.5	50 mM TrisHCl pH 8.0	50 mM TrisHCl pH 8.4	50 mM BORAX pH 9.0	50 mM BORAX pH 9.4
B	50 mM NaAcetate pH 4.0; 100 mM NaCl	50 mM NaAcetate pH 4.4; 100 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.0; 100 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.4; 100 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.0; 100 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.4; 100 mM NaCl	50 mM NaPhosphate pH 7.0; 100 mM NaCl	50 mM NaHEPES pH 7.5; 100 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.0; 100 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.4; 100 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.0; 100 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.4; 100 mM NaCl
C	50 mM NaAcetate pH 4.0; 200 mM NaCl	50 mM NaAcetate pH 4.4; 200 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.0; 200 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.4; 200 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.0; 200 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.4; 200 mM NaCl	50 mM NaPhosphate pH 7.0; 200 mM NaCl	50 mM NaHEPES pH 7.5; 200 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.0; 200 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.4; 200 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.0; 200 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.4; 200 mM NaCl
D	50 mM NaAcetate pH 4.0; 500 mM NaCl	50 mM NaAcetate pH 4.4; 500 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.0; 500 mM NaCl	50 mM NaCitrate pH 5.4; 500 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.0; 500 mM NaCl	50 mM NaCacodylate pH 6.4; 500 mM NaCl	50 mM NaPhosphate pH 7.0; 500 mM NaCl	50 mM NaHEPES pH 7.5; 500 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.0; 500 mM NaCl	50 mM TrisHCl pH 8.4; 500 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.0; 500 mM NaCl	50 mM BORAX pH 9.4; 500 mM NaCl
E	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $MgCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM $CaCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $CaCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $CaCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM $MnCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $MnCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $MnCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM $ZiCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $ZiCl_2$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $ZiCl_2$
F	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM$FeCl_3$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $FeCl_3$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $FeCl_3$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM KCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM KCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM KCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM LiCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM LiCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM LiCl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM NH_4Cl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM NH_4Cl	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM NH_4Cl
G	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM $MgSO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM $MgSO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM $MgSO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM Li_2SO_4	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM Li_2SO_4	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM Li_2SO_4	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM $(NH_4)_2SO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM $(NH_4)_2SO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM $(NH_4)_2SO_4$	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM Glycerol	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM Glycerol	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM Glycerol
H	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM AmAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM AmAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM AmAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM MgAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM MgAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM MgAcetate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM NaFormiate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 100 mM NaFormiate	20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 200 mM NaFormiate	H_2O	Protein in its buffer + Sypro orange (Reference)	H_2O

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Differential Scanning Fluorimetry

DSF or Thermofluor is a useful technique to choose the proper buffer (pH, buffer type and concentration, salt type and concentration) for a protein. DSF monitors the thermal unfolding of proteins in the presence of a fluorescent dye that is highly fluorescent in a non-polar environment compared to aqueous solution where the fluorescence is quenched. To date, SYPRO orange is the dye possessing the most favorable properties for DSF owing to its signal to noise ratio. Additionally, the relatively long wavelength of excitation of SYPRO orange (near 500 nm) decreases the likelihood that buffer components would interfere with the optical properties of the dye (Niesen et al., 2007).

Each enzyme presents a melting temperature (T_m), which corresponds to the temperature where the protein is 50% unfolded, under heating conditions. Meanwhile, heat denaturation is dependent on the relation time/temperature, i. e., the intensity and the duration of the thermal treatment are crucial.

Ninety-six different buffer compositions and compounds were tested for their stabilizing effect on the CalB upon heating from 25 to 95 ºC (Figure 1). The best buffer is the one in which the protein presents the highest melting temperature (T_m), i.e., the one in which the protein is more stable upon heating.

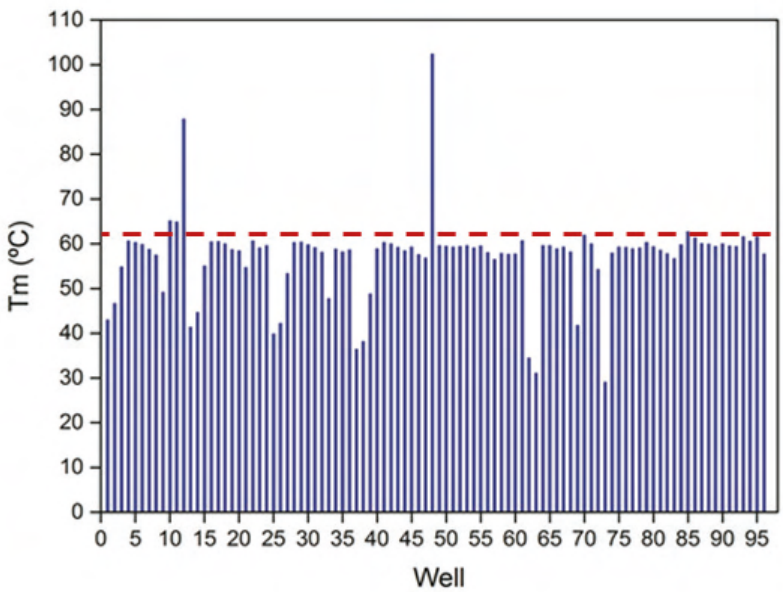


Figure 1. T_m (ºC) for CalB in 96 different buffer conditions.

Conditions A10, A11, A12, D12 and H1 (wells 10, 11, 12, 48, and 85, respectively) showed CalB melting temperatures (T_m) greater than the control condition H11 (well 95) of 61.5 ºC (Table 2). Well 48 is not reliable because a melting temperature of 102.3 ºC is not realistic for any protein.

Well	Condition	T_m (ºC)
10	A10 50 mM TrisHCl pH 8.4	65.1
11	A11 50 mM BORAX pH 9.0	64.9
12	A12 50 mM BORAX pH 9.4	87.8
48	D12 50 mM BORAX pH 9.4; 500 mM NaCl	102.3
85	H1 20 mM NaHEPES pH 7.5, 100 mM NaCl, 50 mM AmAcetate	62.6
95	H11 Protein in its buffer + SYPRO orange (Reference)	61.5

Table 2. T_m (ºC) for CalB in the best buffer conditions.

Upon protein unfolding by thermal denaturation, the aromatic moieties of the dye preferentially binds to the now exposed hydrophobic patches of the protein and the fluorescence intensity increases. Clearly, the SYPRO Orange has low affinity to the protein in temperatures below 65 ºC, indicating that just a few hydrophobic regions are exposed in the native structure. When temperature was increased above 65 ºC, increase in the SYPRO Orange-CalB interaction was observed, indicating that the hydrophobic regions of the protein were exposed, which was followed by aggregation and protein denaturation. Therefore, CalB is more stable in high pH buffers (around 9).

3.2 Influence of temperature and pH

By investigating CalB activity in different pHs (Table 3), it was verified that it is not active in acidic pH (citric acid/trisodium citrate buffer pH 4.8) at any temperature. In general, enzymes are active in a wide pH range, presenting high activity between pH 5 and 9 with

maximum activity between 6 and 8, and do not require cofactor (Ghanem and Aboulenein, 2005). CalB is clearly more active in basic pH (9.2) compared to neutral pH. These results can be correlated to the DSF experiments, which showed that CalB is more stable to thermal denaturation in pH around 9 (Table 2). Moreover, when the temperature of incubation is compared. CalB is slightly more active when previously activated at 65 ºC for 1 hour.

Assay	Incubation	Temperature of measurement (ºC)	pH	Hydrolysis activity (U/mL) (%) ± standard error
1	Stored at 4 ºC in the fridge	30	4.8	-
2			7.5	3.4±1.5
3			9.2	6.1±1.8
4		60	4.8	-
5			7.5	12.1±1.9
6			9.2	21.4±2.1
7	1 h at 65 ºC in a water bath	30	4.8	-
8			7.5	4.2±2.2
9			9.2	8.3±1.6
10		60	4.8	-
11			7.5	16.9±3.0
12			9.2	23.7±2.1

Table 3. CalB hydrolysis activity under different temperatures of incubation, buffers and temperatures of the activity assay.

Most lipases present maximum activity in a temperature range between 30 and 40 ºC, although their thermal stability changes substantially depending on their source – microbial lipases may resist to higher temperatures (65-70 ºC) (Macrae and Hammond, 1985; Jaeger and Eggert, 2002). CalB activity increased 4-fold in all cases when measurements were carried out at 60 ºC compared to 30 ºC at pH 7.5, which is in accordance to various authors (McCabe and Taylor, 2004; Veld, 2010; Jun et al., 2013; Stauch et al., 2015). A 3-fold increment was observed for all measurements performed at pH 9.2 when CalB was submitted to the hydrolysis assay at 60 ºC compared to 30 ºC. The highest hydrolysis activity was observed at 65 ºC for 1 hour and measured in pH 9.2 at 60 ºC.

4 I CONCLUSIONS

Differential scanning fluorimetry (DSF) is an excellent method to screen for conditions/compounds that stabilize proteins due to the small amounts and low protein concentrations required as well as for providing an easy readout for identification of such stabilizing conditions. DSF analysis indicated that CalB is more thermostable in high pH buffers (around 9), with maximum T_m in 50 mM TrisHCl pH 8.4. By investigating CalB activity in different pHs, it was verified that CalB is not active in acidic pH at any temperature. CalB is more active in basic pH compared to neutral pH, which is in agreement with the DSF findings, and slightly more active when previously activated at 65ºC for 1 hour. This CalB high thermal stability makes it superior to other lipases in industrial biotransformation processes.

REFERENCES

BELITZ, H. D. and GROSCH, W. **Química de los alimentos.** 2º edição. Editora Acribia, Zaragoza, 1997.

BLANK, K., MORFILL, J., GUMPP, H., GAUB, H. E. **Functional expression of *Candida Antarctica* lipase B in *Eschericha coli.*** *Journal of Biotechnology*, v. 125, p. 474–483, 2006.

CEN, Y.; SINGH, W.; ARKIN, M.; MOODY, T. S.; HUANG, M.; ZHOU, J.; WU, Q.; REETZ, M. T. **Artificial cysteine-lipases with high activity and altered catalytic mechanism created by laboratory evolution.** *Nature Communications*, **v. 10**, Article number: 3198, 2019.

CHIOU, S. H. and WU, W. T. **Immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan with activation of the hydroxyl groups.** *Biomaterials*, v. 25, p. 197–204, 2004.

CIPOLATTI, E. P., VALÉRIO, A., NICOLETTI, G., THEILACKER, E., ARAÚJO, P. H. H., SAYER, C., NINOW, J. L., OLIVEIRA, D. **Immobilization of *Candida antarctica* lipase B on PEGylated poly(urea-urethane) nanoparticles by step miniemulsion polymerization.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 109, p. 116–121, 2014.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R., ARMISEN, P., SABUQUILLO, P., FERNANDEZ-LORENTE, G., GUISAN, J. M. **Immobilization of lipases y selective adsorption on hydrophobic supports.** *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 93, p. 185–197, 1998.

FERRARIO, V.; EBERT, C.; KNAPIC, L.; FATTOR, D.; BASSO, A.; SPIZZO, P.; GARDOSSI, L. **Conformational Changes of Lipases in Aqueous Media: A Comparative Computational Study and Experimental Implications.** *Advanced Synthesis & Catalysis*, v. 353, p. 2466 – 2480, 2011.

GHANEM, A. and ABOUL-ENEIN, H. Y. **Application of lipase in kinetic resolution of racemates.** *Chirality*, v. 17, p. 1 - 15, 2005.

JAEGER, K. E. and EGGERT, T. **Lipases for biotechnology.** *Current Opinion in Biotechnology*, v. 13, p. 390 – 397, 2002.

JUN, C.; JEON, B. W.; JOO, J. C.; LE, Q. A. T.; GU, S. A.; BYUN, S.; CHO, D. H.; KIM, D.; SANG, B. I.; KIM, Y. H. **Thermostabilization of *Candida antarctica* lipase B by double immobilization: Adsorption on a macroporous polyacrylate carrier and R1 silaffin-mediated biosilicification.** *Process Biochemistry*, v. 48, p. 1181 – 1187, 2013.

LEHNINGER, A. L; NELSON, D. L; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 2ª edição. Editora Sarvier, São Paulo, 1995.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos.** Editora Edgard Blüncher Ltda., São Paulo, 2001.

LUTZ, S. **Engineering lipase B from *Candida antarctica*.** *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 15, p. 2743 – 2748, 2004.

MACRAE, A. R. and HAMMOND, R. C. **Present and future applications of lipases.** *Biotechnology and Genetic Reviews*, v. 3, p. 193 – 217, 1985.

McCABE, R. W. and TAYLOR, A. **An investigation of the acyl-binding site of *Candida antarctica* lipase B.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 35, p. 393 – 398, 2004.

MELGOSA, R.; SANZ, M. T.; SOLAESA, A. G.; BUCIO, S. L.; BELTRÁN, S. **Enzymatic activity and conformational and morphological studies of four commercial lipases treated with supercritical carbon dioxide.** *Journal of Supercritical Fluids,* v. 97, p. 51 – 62, 2015.

NICOLETTI, G., CIPOLATTI, E. P., VALÉRIO, A., CARBONERA, N. T. G., SOARES, N. S., THEILACKER, E., NINOW, J. L., OLIVEIRA, D. **Evaluation of different methods for immobilization of *Candida antarctica* lipase B (CalB lipase) in polyurethane foam and its application in the production of geranyl propionate.** *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 38, n. 9, p. 1739 – 1748, 2015.

NIESEN, F. H., BERGLUND, H., VEDADI, M. **The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability.** *Nature Protocols,* v. 2, p. 2212 – 2221, 2007.

OTTOSSON, J., FRANSSON, L., KING, J. W., HULT, K. **Size as a parameter for solvent effects on *Candida antarctica* lipase B enantioselectivity.** *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1594, p. 325 – 334, 2002.

PARK, A.; KIM, S.; PARK, J.; JOE, S.; MIN, B.; OH, J.; SONG, J.; PARK, S.Y.; PARK, S.; LEE, H. **Structural and Experimental Evidence for the Enantiomeric Recognition toward a Bulky sec-Alcohol by Candida antarctica Lipase B.** *American Chemical Society Catalysis*, v. 6, p. 7458-7465, 2016.

PIYATHEERAWONG, W., IWASAKI, Y., XU, X. B., YAMANE, T. **Dependency of water concentration on ethanolysis of trioleoylglycerol by lipases.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 28, p. 19 – 24, 2004.

QIAN, Z.; HORTON, J. R.; CHENG, X.; LUTZ, S. **Structural redesign of lipase B from Candida antarctica by circular permutation and incremental truncation.** *Journal of Molecular Biology*, v. 393, p. 191 – 201, 2009.

RAZA, S.; FRANSSON, L.; HULT, K. **Enantioselectivity in *Candida antarctica* lipase B: A molecular dynamics study.** *Protein Science*, v. 10, p. 329 – 338, 2001. SCRIBAN, E. **Biotecnologia.** Editora Malone, São Paulo, 1985.

SILVESTRINI, L. & CIANCI, M. **Principles of lipid–enzyme interactions in the limbus region of the catalytic site of Candida antarctica Lipase B.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 158, p. 358–363, 2020.

SKJØT, M.; DE MARIA, L.; CHATTERJEE, R.; SVENDSEN, A.; PATKAR, S. A.; ØSTERGAARD, P. R.; BRASK, J. **Understanding the plasticity of the alpha/beta hydrolase fold: lid swapping on the *Candida antarctica* lipase B results in chimeras with interesting biocatalytic properties.** *ChemBioChem*, v. 10, p. 520 – 527, 2009.

STAUCH, B.; FISHER, S. J.; CIANCI, M. **Open and closed states of *Candida antarctica* lipase B: protonation and the mechanism of interfacial activation.** *Journal of Lipid Research*, v. 56, p. 2348-2358, 2015.

TRODLER, P. and PLEISS, J. **Modeling structure and flexibility of *Candida antarctica* lipase B in organic solvents.** *BMC Structural Biology*, v. 8, n. 8, 2008.

UPPENBERG, J.; PATKAR, S.; BERGFORS, T., JONES, T. A. **Crystallization and preliminary X-ray studies of lipase B from *Candida Antarctica.*** *Journal of Molecular Biology*, v. 235, p. 790 - 792, 1994a.

UPPENBERG, J.; HANSEN, M. T.; PATKAR, S.; JONES, T. A. **The sequence, crystal structure determination and refinement of two crystal forms of lipase B from *Candida antarctica.*** *Structure*, v. 2, p. 293 - 308, 1994b.

UPPENBERG, J.; OHNER, N.; NORIN, M.; HULT, K. KLEYWEGT, G. J.; PATKAR, S.; WAAFEN, V.; ANTHONSEN, T.; JONES, T. A. **Crystallographic and molecular-modeling studies of lipase B from *Candida antarctica* reveal a stereospecificity pocket for secondary alcohols.** *Biochemistry*, v. 34, p. 16838 - 16851, 1995.

VALÉRIO, A., NICOLETTI, G., CIPOLATTI, E. P., NINOW, J. L., ARAÚJO, P. H. H., SAYER, C., OLIVEIRA, D. **Kinetic Study of** *Candida antarctica* **Lipase B Immobilization Using Poly(Methyl Methacrylate) Nanoparticles Obtained by Miniemulsion Polymerization as Support.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 175, n. 6, p. 2961 – 2971, 2015.

VELD, M. A. J. ***Candida antarctica* Lipase B catalysis in organic, polymer and supramolecular chemistry.** Doctoral thesis for the award of the degree “Doctor of Philosophy” in Chemical Engineering at Technische Universität Eindhoven, Germany, 2010.

WESCOTT, C. R. and KLIBANOV, A. M. **The solvent dependence of enzyme specificity.** *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1206, p. 1 – 9, 1994.

XIE, Y.; AN, J.; YANG, G.; WU, G.; ZHANG, Y.; CUI, L.; FENG, Y. **Enhanced enzyme kinetic stability by increasing rigidity within the active site.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 289, p. 7994 - 8006, 2014.

CAPÍTULO 15

MICROSCOPIA DE ALIMENTOS: DIFICULDADES E LEGISLAÇÃO VIGENTE NA IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 10/12/2021

Gustavo Paim de Carvalho
Discente Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/9506617590851824

André Luis de Alcantara Guimarães
Docente Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/2463958807139401
https://orcid.org/0000-0002-0801-6993

RESUMO: Os principais objetivos da microscopia de alimentos são a identificação de produtos alimentícios, detecção de fraudes e pesquisa de sujidades e matérias estranhas. A identificação por meio da microscopia de alimentos de origem vegetal usados in natura ou como matéria-prima de produtos alimentícios caracteriza-se por ser uma metodologia rápida, de relativo baixo custo e extremamente satisfatória nas identificações desejadas. Por meio desse tipo análise, podemos fornecer subsídios aos órgãos governamentais de vigilância sanitária para a verificação da qualidade dos alimentos e, deste modo, auxiliar na proteção à saúde do consumidor. Segundo a RDC n° 14/2014, matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana são aquelas que podem ser macroscópica e/ou microscopicamente detectáveis, capazes de veicular agentes com potencial patogênico para o alimento e/ou de causar danos mecânicos ao consumidor. A resolução indica, ainda, os tipos de matéria estranha, tais como insetos, roedores e outros animais (inteiros ou em partes), excrementos de animais, exceto os de artrópodes, considerados próprios da cultura e do armazenamento do produto e parasitos (helmintos e protozoários). Assim, o presente estudo busca revisar a literatura, analisando os principais contaminantes biológicos encontrados em análises periciais de alimentos, disponibilizando materiais de referência que abordem aspectos diagnósticos, particularmente em espécies alimentícias focais. Os resultados do presente trabalho podem servir de auxílio para a realização dos trabalhos de análise de alimentos realizados em laboratórios de saúde pública e de vigilância sanitária em alimentos e demais centros de fiscalização e pesquisa. As autoridades de regulação devem estar preparadas adequadamente para detectar falhas nos processos de higiene, pois a fiscalização ainda pode ser considerada a forma mais confiável de manter alimentos que foram manuseados de forma inadequada longe do consumidor final.

PALAVRAS-CHAVE: Vigilância sanitária, análise de alimentos, tricologia, roedores, artrópodes.

MICROSCOPICAL ANALYSES OF FOOD: MAIN ISSUES AND LEGISLATION CONCERNING THE IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF BIOLOGICAL CONTAMINANTS

ABSTRACT: The main purposes of the microscopical analyses of food are the identification and assessment of food composition, detection of fraud, adulterants, and strange material. Such identification via microscopy of food consisting of plant material, in natura or raw material, is known as a fast low-cost method, which provides viable and significant results. These analyses may provide insights to governmental offices of food surveillance to ensure the food quality and safety protecting the consumer's health. According to the RDC 14/2014 (official resolution from ANVISA-National Agency of Health Surveillance) strange material harmful to the public health are those which can be macroscopically and microscopically detected and can spread pathogens into the food or induce mechanical damages to the consumers. The RDC also indicates the different types of strange material such as insects, rodents, and other animals (the whole or parts), excrements except for arthropods which are considered fundamental parts from storage or harvesting, and parasites (helminths and protozoa). Thus, the present study aimed to review the literature searching for the main biological contaminants found in food surveillance, providing reference material with diagnostical aspects, especially the most consumed food material. Our results may contribute to further studies and analyses from public offices of food surveillance and other research institutes. The food control authorities should be properly prepared to detect flaws in the cleaning processes from manufacturers since the food surveillance analyses represent the most reliable way of keeping poorly manufactured and conserved food material away from the costumers.
KEYWORDS: food surveillance, food control, trichology, rodents, arthropods.

INTRODUÇÃO

No Brasil no período de 2000 até 2017, foram contabilizados 12.503 surtos de doenças oriundas de alimentos contaminados por algum tipo de patógeno, nos quais 2.340.201 de pessoas foram expostas a contaminantes e 236.403 pessoas de fato ficaram doentes, das quais 182 vieram a óbito (BRASIL, 2018). Outro informe de notificações de doenças transmitidas por água e alimentos, referente aos anos de 2016 a 2019, relata uma média de 626 surtos por ano, que acometeram um total de 37.247 pessoas, uma média de 9.312 casos por ano. Como surto, caracteriza-se episódio em que duas ou mais pessoas que ingeriram alimentos ou água da mesma origem apresentam os mesmos sintomas. Esses surtos de doenças transmitidas por alimentos constituem eventos de saúde pública, gerando gastos aos cofres públicos e trazendo risco à saúde da população (BRASIL, 2020).

Van Amson, Haracemiv e Masson (2006) registraram o aumento de surtos de doenças contraídas de origem alimentar entre 1978 e 2000, reforçando a necessidade de maior atenção na área de segurança alimentar uma vez que muitas práticas inadequadas durante o processamento ocorrem devido à precariedade da cobertura e assistência dos serviços oficiais da Vigilância Sanitária de Alimentos. Seja por ausência de notificação ou de investigação dos surtos, ambos são fatores que potencializam o aumento gradativo de

contaminações ou ocorrência das doenças transmitidas por alimentos no país. Os autores discutem ainda a importância da implantação de melhorias nos métodos de processamento dos alimentos e da conscientização a respeito de segurança alimentar de todos os envolvidos na produção e manufatura de alimentos, medidas essas que se tomadas durante toda a cadeia produtiva poderiam reduzir a contaminação dos produtos e, consequentemente, a incidência das doenças de origem alimentar, garantindo maior segurança do consumidor.

Uma ferramenta fundamental para diminuir o número de doenças relacionadas a contaminação de produtos alimentícios é a microscopia de alimentos, cujos principais objetivos são a identificação de produtos alimentícios, detecção de fraudes e pesquisa de sujidades e matérias estranhas, por meio de análises de microscopia. Por meio dessas análises, pode-se obter provas que fornecem subsídios aos órgãos governamentais de vigilância sanitária para a verificação da qualidade dos alimentos e, deste modo, auxiliar na proteção à saúde do consumidor (RODRIGUES et al, 1999; OLIVEIRA et al. 2015). Apesar de envolver metodologias relativamente simples, como o uso de microscópios ópticos simples e reagentes acessíveis, a microscopia de alimentos exige do perito conhecimentos técnicos aprofundados de Botânica e Zoologia, principalmente morfologia vegetal e animal, pois tal identificação requer a diferenciação entre padrões morfologicamente muito semelhantes, tornando a diagnose difícil. Existem protocolos de pesquisa de sujidades estabelecidos por órgãos internacionais como a Food and Drug Administration (FDA), *Association of Analytical Chemistry* (AOAC) e nacionais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (AOAC, 2000; IAL, 2008; BRASIL, 2014) porém, ainda assim é indispensável a criatividade da equipe de peritos para inovação e adaptação dos protocolos aos materiais recebidos (OLIVEIRA et al., 2015).

A identificação de sujidades e matérias estranhas por microscopia de alimentos usados *in natura* ou como matéria-prima de produtos alimentícios caracteriza-se por ser uma metodologia rápida, de relativo baixo custo e extremamente satisfatória nas identificações desejadas, identificando os alimentos e evidenciando paralelamente a presença de fraudes e sujidades (OLIVEIRA et al., 2015). Tais características fazem com que a microscopia de alimentos seja vital nas análises bromatológicas fiscais e de orientação, servindo como prova do uso inadequado de processos de higiene no manuseio.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão da literatura, relatando a presença de contaminantes biológicos em alimentos à luz da normatização vigente, analisando as dificuldades e legislação encontradas por técnicos em microscopia de alimentos sobre a identificação e análise de contaminantes biológicos, ainda, tais evidências levantam questões pertinentes à análise de alimentos, como: a falta de material específico sobre microscopia de alimentos: identificação e análise de contaminantes biológicos, pode atrasar e/ou encobrir problemas? Como a legislação brasileira rege o desenvolvimento e padronização de métodos analíticos em microscopia de alimentos: identificação e análise de contaminantes biológicos?

DESENVOLVIMENTO

É vital a avaliação de matérias estranhas nas amostras alimentícias, já que servem como parâmetro das condições higiênicas dos alimentos, uma vez que as sujidades encontradas podem servir de vetores de patógenos ou causar dano mecânico ao consumidor, oferecendo risco à saúde.

Segundo a RDC 14 de 2014 (BRASIL, 2014), matérias estranhas indicativas de riscos à saúde humana são aquelas que podem ser macroscópica e/ou microscopicamente detectáveis, capazes de veicular agentes com potencial patogênico para o alimento e/ou de causar danos mecânicos ao consumidor, tais como: pelos de roedores e não roedores, como de humanos; fragmentos de excrementos de roedores; insetos inteiros ou suas partes, bem como seus excrementos; larvas; ovos; terra e detritos de animais e vegetais. Existe, contudo, limite de tolerância para insetos próprios da cultura (não considerados indicativos de risco) (BRASIL, 2014).

Ainda, é vetada a presença de matérias estranhas indicativas de risco sanitário ou aquelas capazes de veicular agentes patogênicos para os alimentos e/ou de causar danos ao consumidor, considerando a população exposta, o processamento, as condições de preparo e forma de consumo do produto. Excetuam-se, entretanto, alguns produtos com limite definido para pelo de roedor, pois considera-se que esses pelos sejam oriundos do campo e que, mesmo após os processos de seleção e higienização da matéria-prima, permanecem aderidos, tais como produtos de tomate, uva-passa, alguns chás e condimentos e produtos de cacau. Além disso, a análise microscópica também pode avaliar fungos, bactérias e parasitos, três grandes grupos de contaminantes que deem ser vigiados e acompanhados com maior atenção, ressalta-se ainda que os limites estabelecidos não dispensam a observância de outros requisitos relativos às Boas Práticas de higiene e de fabricação (BRASIL, 2014).

A RDC 275 de 2002 (BRASIL, 2002) define os conceitos de limpeza, desinfecção, higienização, antissepsia, controle integrado de pragas e programa de recolhimento de alimentos e resíduos e Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs), aplicados aos estabelecimentos produtores de alimentos. Os POPs relacionados ao controle de vetores e pragas urbanas devem contemplar as medidas preventivas e corretivas destinadas a impedir a atração, o abrigo, o acesso e/ou a proliferação de vetores e pragas urbanas que comprometam a segurança do alimento. A RDC 275/2002 traz ainda o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados a fim de garantir a inocuidade e o bom manejo de alimentos para indústrias que desempenhem algumas das seguintes atividades: produção/industrialização, fracionamento, armazenamento e transporte de alimentos industrializados. Cabe ressaltar que, para permitir apropriada higienização do ambiente, os alimentos devem ser armazenados separados por tipo ou grupo, sobre estrados ou

paletes bem conservados e limpos ou sobre outro sistema aprovado, a fim de manter distância do piso, que deve ser de material que permita fácil higienização, de superfície lisa, resistente, drenáveis com declive. Ainda, deve-se manter os produtos afastados das paredes e distantes do teto, para facilitar a circulação de ar (BRASIL, 2002).

A presença de matérias estranhas, contaminantes, fragmentos de insetos, excrementos de roedores e baratas, raramente é identificada por meio de análises diretas, requerendo preparação específicas a depender do alimento e do contaminante (OLIVEIRA et al., 2015). Contudo, apesar da normatização vigente, ainda há muitas falhas no controle de pragas e vetores (insetos, roedores e pragas urbanas), informações contraditórias e o desconhecimento por parte de responsáveis técnicos que, por vezes, não tem formação compatível para caracterização destes animais. Os analistas devem também evitar a contaminação das amostras durante a preparação das amostras por insetos e, principalmente, pelos, gerando resultados falsos positivos, estes que são fatores que influenciam negativamente no controle de higiene alimentar (BRASIL, 2002; MATIAS, 2007).

Um aspecto relevante sobre contaminantes diz respeito à tricologia, que pode ser aplicada nas investigações forenses e de análise de matérias estranhas em alimentos, pois os arranjos dos padrões microestruturais das três camadas celulares concêntricas: a cutícula (mais externa), o córtex (intermediário) e a medula (mais interna) dos pelos dão características em nível de ordem e família para animais. Deste modo, a combinação dos padrões morfológicos da cutícula e da medula confere características diagnósticas específicas para cada família de mamíferos sendo de interesse a identificação de pelos e sujidades no controle da qualidade de alimentos, particularmente oriundos de roedores (ratazanas e camundongos), pois esses podem ser carreadores de doenças (MIRANDA; RODRIGUES; PAGLIA, 2014; SILVEIRA et al., 2013).

Os roedores constituem reservatórios assintomáticos de doenças infecciosas, além de servirem como hospedeiros de artrópodes vetores, como as pulgas e os ixodídeos - transmissores da tularemia, uma zoonose causada pela bactéria *Francisella tularensis*. Na ordem dos roedores (Rodentia), a família Muridae, composta por ratos e ratazanas, conta com algumas espécies altamente adaptadas à sociedade humana e que podem transmitir patógenos, através de mordidas, por contaminação da água ou de alimentos com suas fezes e urina, o que reforça a necessidade de controle desse grupo por parte dos órgãos públicos de saúde (NÚNCIO; ALVES, 2014).

Assim como os roedores, os artrópodes também estão bem adaptados à convivência com o ser humano, estando presentes em nossas casas e indústrias. Na indústria alimentícia, a presença de fragmentos de artrópodes em alimentos é preocupante pois pode indicar que a matéria-prima não foi manuseada de forma correta e que não foram tomadas as devidas medidas higiênico-sanitárias. Deve-se mencionar que os artrópodes podem agir como vetores, inteiros ou em partes, estas que, por serem pequenas e quase

imperceptíveis, podem passar despercebidas em muitos casos, caracterizando-se também como um contaminante de risco à saúde pública, já que o mínimo contato com partes infectadas podem provocar risco à integridade da saúde (SILVA; FULCO; BARBOSA, 2015).

A contaminação de alimentos por insetos, apesar de seus riscos, é bastante comum, pois mesmo que haja diversas formas para minimizá-la, a seleção e higienização fica mais difícil em alimentos que apresentam infestação interna por artrópodes adultos e/ou suas formas imaturas, sendo possível que a infestação passe despercebida pelo técnico responsável. Assim, os insetos que contaminam o interior da matéria-prima são moídos e/ou processados junto com o alimento e, consequentemente, o produto derivado estará contaminado com fragmentos de insetos. Nesses casos, a caracterização da origem e tipo do material estranho é feita por meio de tais fragmentos, como pedaços de élitros, do tórax, de mandíbulas, de pernas, de antenas, de cápsulas cefálicas e só raramente dos insetos inteiros oque demanda maior nível de expertise dos técnicos analistas (VARGAS; ALMEIDA, 1996).

As moscas (Diptera), insetos amplamente distribuídos pelo globo e que, frequentemente, estão presentes em meios onde os processos de higiene não estão sendo aplicados de forma correta, podem servir de vetores para *Salmonella* spp., reforçando a ideia de que análises e a identificação de fragmentos de insetos não é apenas uma questão estética e trivial, já que esses pedaços podem trazer risco à saúde (OSOWSKI; ORLANDIN; DUARTE, 2016). Outro exemplo de parasito que pode estar contaminando é o *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas, que pode levar à morte. Os seus principais vetores são os insetos da subfamília Triatominae (Reduviidae; Hemiptera) e uma das formas de transmissão dessa doença é a via oral, principalmente por ingestão de alimentos contaminados com triatomíneos infectados ou suas fezes (COURA, 2006 *apud* FERREIRA; BRANQUINHO; CARDARELLI-LEITE, 2014).

A contaminação do alimento pode não ocorrer só na indústria, como pode estar ligada também à higiene empregada nas unidades de alimentação e nutrição (cantinas e cozinhas). Por vezes, são detectados problemas quanto à estrutura física desses estabelecimentos que, comumente, não contam com uma área adequada para cumprir o trabalho, e a mão de obra não recebe qualquer tipo de treinamento sobre boas práticas de fabricação. A falta de higiene nesses locais pode atrair roedores e insetos que não necessariamente estavam na matéria-prima original. Assim, os analistas devem ter expertise de saber diferenciar em que momento o alimento foi contaminado, a fim de repassar a devida responsabilidade (CARDOSO et al., 2005).

Sobre as unidades de alimentação, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) traz a RDC N° 216 de 2004 que dispõe sobre o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação e que realizem algumas das seguintes atividades: exposição à venda e entrega de alimentos preparados ao consumo, tais como cantinas, cozinhas industriais e institucionais, lanchonetes, restaurantes, entre outros serviços de

alimentação. Nessa resolução, podemos encontrar normas que variam desde a higienização de utensílios até normas para higiene de funcionários e controle integrado de vetores e pragas urbanas (BRASIL, 2004).

Desse modo, as Boas Práticas de Higiene e de Manufatura e a aproximação entre instituições de ciência, produtores e indústria são essenciais para auxiliar no controle de agentes causadores de doenças, garantindo a inocuidade dos alimentos. Ainda, trabalhos, livros e artigos que permitam a elucidação dos métodos de controle e identificação de vetores são essenciais no processo de manufatura de alimentos, a fim de garantir um padrão de qualidade, conforme estabelecido na normatização vigente (FERREIRA; BRANQUINHO; CARDARELLI-LEITE, 2014).

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa, na qual realizou-se a busca de estudos com metodologias diferentes, de modo a integrar os resultados, ampliando as possibilidades de análise da literatura (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008). Como principal questão norteadora para a revisão, foi estabelecida: “Quais as principais dificuldades e legislação encontradas por técnicos em microscopia de alimentos na identificação e análise de contaminantes biológicos.”

Para a elaboração dessa revisão foram utilizados trabalhos, artigos, livros, informes oficiais, boletins epidemiológicos e resoluções obtidos através de pesquisa com os termos: sujidades, matérias estranhas, alimentos, insetos, pelos, microscopia, contaminantes e RDC nos bancos de dados Scielo, portal periódicos Capes e portal gov (Ministério da Saúde). Finalmente, foram utilizados os trabalhos que elucidassem a situação do Brasil com relação a inocuidade dos alimentos ofertados ao consumidor final e que relatassem aspectos legais relacionados com o assunto.

CONCLUSÃO

Apesar de termos legislações para conter e fiscalizar as contaminações advindas de animais vetores de patógenos, estas ainda são comuns e as autoridades de fiscalização devem estar preparadas adequadamente para detectá-las, pois são indicativas de más condições higiênicas e sanitárias no preparo do alimento e podem trazer risco a saúde do consumidor.

Estudos aplicados, que sirvam de base para novas chaves de identificação, a fim de facilitar o trabalho de peritos, diminuir os custos do processo e aumentar o acesso e a velocidade de realização das análises, são necessários para manter os órgãos de fiscalização sempre atualizados.

A fiscalização ainda pode ser considerada a forma mais confiável de manter alimentos que foram manuseados de forma inadequada longe do consumidor final, sabendo que a

higiene total de dados produtos pode ser inviável, já que em muitos processos ao longo da cadeia produtiva, esse alimento pode entrar em contato com materiais que podem trazer algum tipo de sujidade com potencial prejuízo ao ser humano.

REFERÊNCIAS

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. HORWITZ, W. (Ed.). 17ed. v.1. Rockville: AOAC Intl. 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências.. **Resolução RDC Nº 14, de 28 de Março de 2014**. Diário Oficial da União, Brasília, Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0014_28_03_2014.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2021.

BRASIL. **Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos**: brasil, 2016-2019. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 35 p. Coordenação Geral de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis (CGZV/DEIDT/SVS), V. 51, nº 32. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/August/17/Boletim-epidemiologico-SVS-32.pdf>. Acesso em: 1 ago. 2021

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da União. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002.** Diário Oficial da União, Brasília, 2002.

BRASIL. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. 2018. Ministério da Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>. Acesso em: 1 ago. 2021.

CARDOSO, R. de C. V., SOUZA, E. V. A. de, & SANTOS, P. Q. dos. (2005). **Unidades de alimentação e nutrição nos campi da Universidade Federal da Bahia: um estudo sob a perspectiva do alimento seguro.** Revista de Nutrição, 18(5). https://doi.org/10.1590/s1415-52732005000500010

COURA JUNIOR. Transmissão da infecção chagásica por via oral na história natural da doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39 (Supl 4):113-7. in FERREIRA, R. T. B.; BRANQUINHO, M. R.; CARDARELLI-LEITE, P.. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a vigilância sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, n. 4, p. 4-11, 25 nov. 2014. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência y Tecnologia. http://dx.doi.org/10.3395/vd.v2i4.358. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9712>. Acesso em: 08 ago. 2021.

FERREIRA, R. T. B.; BRANQUINHO, M. R.; CARDARELLI-LEITE, P.. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a vigilância sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, n. 4, p. 4-11, 25 nov. 2014. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência y Tecnologia. http://dx.doi.org/10.3395/vd.v2i4.358. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9712. Acesso em: 08 ago. 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físico Químicos para análise de Alimentos. v. 1, 3 edição. São Paulo: IMESP, 2008.

MATIAS, R. S.. O controle de pragas urbanas na qualidade do alimento sob a visão da legislação federal. **Food Science and Technology.** 2007, v. 27, p. 93-98. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000500017>) Acesso: 29 jul 2021.

MENDES, K. D. S., SILVEIRA, R. C. de C. P. E GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. Texto & Contexto - Enfermagem [online]. 2008, v. 17, n. 4 [Acessado 18 Outubro 2021] , pp. 758-764. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-07072008000400018>.

MIRANDA, G. H. B. de; RODRIGUES, F.H. G.; PAGLIA, A. P.. **Guia de Identificação de Pelos de Mamíferos Brasileiros**. Brasília: Ciências Forenses, 2014. 113 p. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/266908770_Guia_de_Identificacao_de_Pelos_de_Mamiferos_Brasileiros>. Acesso em: 6 ago 2021.

NÚNCIO, M. S.; ALVES, M. J. (ed.). **Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**. 2ª ed. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Ip 2019, 2019. 198 p. Disponível em: <http://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2019/09/Doencas_artropodes_vetores_roedores.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2021.

OLIVEIRA, F.; RITTO, J. L. A.; JORGE, L. I. F.; BARROSO, I. C. E.; PRADO, B. W. Microscopia de alimentos: Exames microscópicos de alimentos in natura e tecnologicamente processado. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, ed 1, 2015.

OSOWSKI, G. V.; ORLANDIN, E.; DUARTE, S. C.. **Identificação molecular de Salmonella spp. em conteúdo interno de moscas (Díptera) presentes em granja avícola.** Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE). JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (JINC), 10., 2016, Concórdia. Anais... Brasília: Embrapa, 2016. p. 17-18., 2016.

RODRIGUES, M. M. S.; ATUI, M. B.; CORREA, M. et al. Métodos de análise microscópica de alimentos: isolamentos de alimentos histológicos. Instituto Adolfo Lutz. V.1, 1999.

SILVA, T. R. DA; FULCO, T. de O; BARBOSA, J. V. **Investigação de artrópodes em alimentos na transmissão de doenças.** Revista Interdisciplinar -Episteme Transversalis, v. 6, p. 21, 2015.

SILVEIRA, F. et. al. **Proposta de utilização da microestrutura de pelos-guarda para fins de estudos forenses e no controle de qualidade de alimentos.** Revista Brasileira de Criminalística, v. 2, n. 1, p. 32-41, 12 out. 2013. Associação Brasileira de Criminalística - ABC. http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v2i1.46. Disponível em: <http://rbc.org.br/ojs/index.php/rbc/article/view/46>. Acesso em: 14 ago. 2021.

VAN AMSON, G.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L.. **Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná Brasil, no período de 1978 a 2000.** Ciência e Agrotecnologia, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, dez. 2006. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542006000600016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/nRB6bD8Fc7MTNYzzSqkfHgB/abstract/?lang=pt#>. Acesso em: 09 ago. 2021.

VARGAS, C. H. B.; ALMEIDA, A. A. de.. Identificação dos insetos infestantes de alimentos através da micromorfologia de seus fragmentos. Revista Brasileira de Zoologia. 1996, v. 13, n. 3, p. 737-746. ISSN 0101-8175. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-81751996000300021>. Acesso em: 14 ago 2021.

CAPÍTULO 16

IDENTIFICAÇÃO MICROSCÓPICA DE ADULTERANTES E MATÉRIAS ESTRANHAS NA COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS E OS IMPACTOS NA SAÚDE PÚBLICA

Data de aceite: 01/11/2021
Data de submissão: 15/12/2021

Ludilaine Fiuza Barreto de Oliveira
Discente Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/0754328388481483

André Luis de Alcantara Guimarães
Docente Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/2463958807139401
https://orcid.org/0000-0002-0801-6993

RESUMO: A análise microscópica de alimentos é um método de execução rápido e de custo baixo, tornando-a bastante viável. Ela nos permite elucidar casos de matérias estranhas prejudiciais à saúde humana indicativas da não adoção de boas práticas de fabricação, assim como evidenciar uma série de fraudes, que dificilmente seriam reveladas por outras análises, que muitas vezes são demoradas e dispendiosas. Assim, é o método usualmente utilizado pelos órgãos governamentais em análises fiscais na evidenciação de alimentos fraudados e/ou em mau estado de conservação. A adulteração de alimentos, intencional ou não, é uma realidade nos tempos atuais, assim como os estudos apontados nos revelam que também fora um problema no passado, tornando imprescindíveis as investigações e controle, por se tratar de uma questão de saúde pública envolvendo milhares de pessoas. As fraudes podem ser detectadas ao verificarmos a substituição intencional de uma parte ou de todo o material que compõe o produto comercial. O objetivo geral do estudo é realizar a revisão integrativa da literatura, relatando a presença de adulterantes e matérias estranhas nos alimentos e os impactos na saúde pública. Os alimentos mais comumente envolvidos em fraudes são o café, chás e especiarias e condimentos, que tiveram como principais adulterantes os amidos e material histológico da mesma espécie, mas que não fazem parte da composição do alimento ou espécies diferentes. Adulterantes e matérias estranhas também evidenciam falhas nas boas práticas de fabricação do produto, representando risco em potencial para a saúde do consumidor. O levantamento de problemas encontrados nesses alimentos estimula a pesquisa, análise e validação de métodos preparativos e analíticos, com base na literatura, que sejam compatíveis com a estrutura e condições técnicas dos laboratórios de vigilância sanitária.

PALAVRAS-CHAVE: Fiscalização sanitária, análise de alimentos, microscopia de alimento, morfologia vegetal, anatomia vegetal.

MICROSCOPIC IDENTIFICATION OF ADULTERANTS AND FOREIGN MATERIALS IN FOOD COMPOSITION AND THE IMPACTS ON PUBLIC HEALTH

ABSTRACT: The microscopical analyses of food

consist of a low-cost fast method viable to implementation. They allow the teams of specialists to resolve issues regarding the presence of contaminants and strange material, which may be harmful to the public health. The other methods available are more expensive and time consuming and may not reveal such adulterants as the microscopical analyses, which make them the most viable way in official governmental food surveillance to check for adulterants in poorly conserved food. The adulteration of commercial food has been a reality for the past decades which highlight the need for proper food surveillance since these issues reflect on the public health of several thousands of people. Such adulterations may be detected by the assessment of intentional replacement of a part or the entire material that represents the commercial food. The aim of this study is to review the literature, discussing the presence of adulterants and strange material in food and their impacts over the public health. The most adulterated food are coffee, tea, spices, and condiments which presented starch and other parts of the plant species as the most typical adulterants found. This evidence highlights possible flaws regarding the best practices and represent possible damages to the consumers public health. Thus, this review may stimulate research, analysis, and validation of preparative and analytical methods, which are compatible with the infrastructure and technical knowledge of the laboratories of food surveillance.
KEYWORDS: food surveillance, food analysis, food microscopy, plant morphology, plant anatomy.

1 I INTRODUÇÃO

A análise microscópica de alimentos é um método de execução rápido e de custo baixo que pode ser definida como um conjunto de métodos analíticos, que se utiliza da observação microscópica, identifica os alimentos e evidencia paralelamente a presença de fraudes e/ou sujidades (OLIVEIRA et al, 2015). A microscopia nos permite elucidar casos de matérias estranhas prejudiciais à saúde humana indicativas da não adoção de boas práticas de fabricação, assim como evidenciar uma série de fraudes, que dificilmente seriam reveladas por outras análises, que muitas vezes são demoradas e dispendiosas. Assim, é o método usualmente utilizado pelos órgãos governamentais em análises fiscais na evidenciação de alimentos fraudados e/ou em mau estado de conservação (RODRIGUES et al, 1999; OLIVEIRA et al, 2015).

Por essas adulterações serem comuns, as autoridades de fiscalização devem estar preparadas adequadamente para detectá-las, além das más condições higiênicas e sanitárias, de modo a diminuí-las, pois, segundo Oliveira et al (2015) a incidência de fraudes está relacionada com fatores ligados ao mercado consumidor e à fiscalização, demonstrando a necessidade de investimentos em qualificação técnico-científica e infraestrutura dos laboratórios públicos de vigilância sanitária.

Além da verificação de adulterações ou substituições fraudulentas, é essencial a avaliação de matérias estranhas nas amostras de forma a colaborar para a garantia das condições higiênicas dos alimentos. A RDC nº 14, de 28 de março de 2014, legislação vigente que dispõe sobre matérias estranhas e seus limites de tolerância nos alimentos,

aponta que os pelos de roedores e não roedores, como de humanos, excrementos de roedores, insetos inteiros ou suas partes, além de seus excrementos, larvas, ovos, terra, detritos de animais e vegetais, podem ser encontrados em alimentos. Apesar de existir um limite de tolerância para insetos próprios da cultura (não considerados indicativos de risco), é vetada matéria estranha indicativa de risco sanitário ou capaz de veicular agente patogênicos para os alimentos e/ou de causar danos ao consumidor. Alguns produtos, no entanto, apresentam limite restrito para pelo de roedor, oriundos do campo e que, mesmo após os processos de seleção e higienização da matéria prima, permanecem aderidos, tais como produtos de tomate, uva passa, alguns chás, condimentos e produtos de cacau. A RDC 14/14 descreve também de forma específica matérias estranhas diversas que podem ser encontradas nos diferentes tipos de alimento, bem como a metodologia analítica descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC), como referência.

Produtos como café, amidos, farináceos, condimentos e chás diversos estão comumente envolvidos em adulterações e fraudes, sendo alvos em potencial para atuação e investigação dos órgãos fiscalizadores, bem como dos laboratórios de saúde pública, devido ao impacto direto na saúde do consumidor.

Em 2019, uma pesquisa encomendada pela Jacobs Douwe Egberts (JDE), mostra que o café é a segunda bebida mais consumida entre os brasileiros, ficando atrás apenas da água (ESTADODEMINAS, 2019). Devido sua grande receptividade não somente no Brasil, mas no mundo, o café é um dos produtos de maior comercialização no mercado internacional e o Brasil é reconhecido como um dos maiores produtores e exportadores de grãos de café (NOTICIASAGRICOLAS, 2021).

Esses fatores mostram que estudos relacionados à composição do grão, detecção de fraudes e avaliação de sua qualidade são de extrema importância. Segundo Amboni et al (1999), os adulterantes mais comumente usados na adulteração de café são milho, cevada, trigo e centeio, pois são mais baratos, estão disponíveis em grande quantidade e apresentam semelhança com o café ao ser torrado e moído. Portanto, onde o café é consumido deve haver uma preocupação das autoridades sanitárias.

Segundo Valenzuela et al. (2009), durante anos verificou-se que uma em cada quatro amostras de marcas de café estava fraudada com impurezas. Embora o cacau, cevada, arroz, feijão e soja torrados terem sido encontrados, o milho é o mais usado como adulterante, pois é facilmente obtido em larga escala, difícil de ser visualizado a olho nu após torra e moagem, além de seu baixo custo. As informações apresentadas contribuem como alerta às indústrias e comerciantes para os resultados fora dos padrões estabelecidos pela legislação que regulamenta a qualidade do café, bem como para as autoridades fiscais, pois tais práticas causam prejuízos aos consumidores. (VALENZUELA et al. 2009; AMBONI et al, 1999).

O chá também é uma das bebidas aromáticas muito consumidas no mundo, tradicionalmente preparado a partir de folhas da planta *Camellia sinensis* (L.) Kuntze,

espécie nativa da China e países vizinhos. O chá também é um suplemento alimentar e, além de sua natureza ritualística nas culturas asiáticas, também é muito popular para um número crescente de consumidores em todo o mundo. Estudos mostram que o chá tem vários efeitos de promoção a saúde, como propriedades antioxidantes, anticarcinogênicas, cardioprotetoras, redutoras do colesterol, anti-histamínicas e antimicrobianas, levando ao aumento do seu consumo (NAVEED et al, 2018).

O aumento na demanda atrelado ao alto custo de produção e fornecimento do chá impulsiona a prática fraudulenta principalmente em países orientais como a Índia, onde as adulterações ocorrem nos mercados locais (NAGVANSHI, 2015; SINGH, 2013). Os adulterantes comuns não declarados incluem vários materiais inorgânicos, como tintas, flocos de couro e areia, bem como, partes de outras espécies vegetais de qualidade inferior. A adulteração de produtos de chá com casca de castanha de caju, que é a capa que envolve o grão de caju, é uma prática muito comum e lucrativa nos países asiáticos e um problema global de segurança alimentar, pois as castanhas de caju contêm substâncias alergénicas que podem causar intoxicações e/ou efeitos colaterais indesejáveis (LAGIOTIS et al, 2020).

As especiarias em pó também são muito sujeitas a ações fraudulentas de acordo com Silvis et al. (2017), pois na sua produção as etapas de moagem ou trituração transformam tanto o produto quanto o adulterante, em pó, por essa razão, sua identificação se torna mais complicada. Especiarias como cúrcuma (açafrão-das-índias); o açafrão; páprica; pimenta preta etc., fazem parte de uma classe atrativa para os fraudadores, porque têm um valor comercial elevado. Por ser considerada uma das especiarias mais caras do mundo, o açafrão, vem sendo referido em estudos recentes como a especiaria mais adulterada pela adição de matérias vegetais estranhas de baixo custo como semente de papaia, amido e outros, com a intenção de aumentar o seu peso e volume aparentes (SILVIS et al, 2017; JOHNSON, 2014; CÉROU, 2018).

As técnicas para fraudar especiarias estão muito avançadas, mas no geral, a forma mais precisa para demonstrar que a especiaria foi fraudada é realizar análises químicas, bioquímicas e microscópicas que comprovam a presença de um corpo estranho (MELO et al, 2021).

A adulteração de alimentos, intencional ou não, é uma realidade nos tempos atuais, assim como estudos nos apontam que também fora um problema no passado, tornando imprescindíveis as investigações e controle, por se tratar de uma questão de saúde pública envolvendo milhares de pessoas. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão da literatura, relatando a presença de adulterantes e matérias estranhas nos alimentos e os impactos na saúde pública.

2 | DESENVOLVIMENTO

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura sobre a identificação microscópica de adulterantes e matérias estranhas em alimentos comumente envolvidos em adulterações e fraudes e os impactos na saúde pública. Através da busca nas bases de dados informadas encontrou-se 456 artigos. A partir disso, foi realizada a leitura de todos os títulos e resumos e, considerando os critérios de seleção, 11 estudos foram selecionados para análise. Os estudos considerados seguiram os critérios: tema abordado relacionado a esta revisão, tipo e data de publicação.

Categorias	Artigos selecionados
Estudos com amostras de café	SILVA et al., 2019; ASSIS et al., 2020; MENDES et al., 2016.
Estudos com amostras de chás	MENDES et al., 2007; SANTOS et al., 2015;
Estudos com amostras de condimentos/ especiarias	RODRIGUES et al., 2005; MELO et al., 2021; PAULI-YAMADA et al., 2021;
Estudos com farináceos/amidos	PRADO et al., 2005; PRADO et al., 2010; DAROS et al., 2010;

Tabela1: Classificação dos estudos em categorias temáticas.

Na cidade de Sete Lagoas, em Minas Gerais, o Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João del-Rei, adquiriu dez amostras de café torrado e moído, sendo cinco delas embaladas e cinco a granel, com objetivo de analisar a presença de matérias estranhas e sujidades pesadas que foram separadas realizando o processo de quarteamento, tamisação, decantação das sujidades em clorofórmio e coleta do material decantado para filtração. Para identificação dos fragmentos retidos no filtro, foi utilizado um microscópio estereoscópio e um microscópio ótico. A umidade, o pH, acidez titulável e resíduo mineral fixo (cinzas) foram avaliados através de análises físico-químicas. Os resultados deste estudo mostraram que 80% das amostras analisadas (5 a granel e 3 embaladas) apresentaram algum tipo de matéria estranha como fragmentos de insetos, pelos, areia e fragmentos de tecidos. Tanto as amostras a granel como as embaladas apresentaram médias semelhantes, exceto a acidez titulável que foi maior nas

amostras embaladas, onde 50% não se adequaram quanto ao teor de umidade e 70% apresentaram valores de cinzas acima de 5%. Embora o estudo tenha evidenciado a presença de matérias estranhas e sujidades, a quantidade encontrada estava abaixo dos limites permitidos pela legislação vigente, o que não exclui a evidência de falhas nas boas práticas de fabricação e/ou processamento do produto. A acidez titulável é um parâmetro ligado diretamente a qualidade do café, portanto, os resultados obtidos fora dos padrões estabelecidos pela legislação evidenciam o comprometimento na qualidade (SILVA et al, 2019). Este estudo demonstrou que a microscopia é um método eficaz de análise e os resultados obtidos contribuem como alerta para os fabricantes quanto ao cuidado nas boas práticas de fabricação, além do cuidado de estar em conformidade com os programas de regulamentação da qualidade do café, pois além de envolver prejuízos econômicos afetam a saúde dos consumidores.

Em 2020, foram analisadas três marcas de café comercializadas na região metropolitana do Rio de Janeiro e uma em Muriaé - Minas Gerais, através de um estudo com objetivo de verificar a qualidade do produto disponível. As amostras foram analisadas seguindo método de quarteamento para homogeneização, desengorduramento, filtração, quantificação de cascas e paus e análise microscópica para identificação de matéria estranha. As análises microscópicas foram realizadas com microscópios estereoscópico e fotônico, observando-se aspectos relacionados aos danos na embalagem, a autenticidade e pureza da matéria-prima, além da presença de matérias estranhas macro e microscópicas. Três (marcas A, B e D) das amostras analisadas mostraram a presença de sujidades como cascas e paus e outros elementos vegetais caracterizados como adulterantes como o cacau, milho e arroz. Em uma das amostras (marca C), apesar de não estar isenta de adulterantes e de sujidades leves, os resultados foram mais satisfatórios (ASSIS et al, 2020). Os processos aplicados neste estudo de gravimetria e microscopia mais uma vez se mostraram eficazes para avaliação desses parâmetros. Sendo assim, o estudo mostra a necessidade de avaliação por parte dos fabricantes na qualidade do café, uma vez que, embora os resultados não estejam em desacordo com legislação vigente RDC 14/14, as sujidades e adulterantes presentes representam inconformidades quanto ao esperado pela ABIC- Associação Brasileira da Indústria do Café, que é um programa de controle de credibilidade através de selo, com intuito de prezar pela qualidade do café disponível.

Como a microscopia baseia-se também em um método de comparação da anatomia do vegetal e a expertise do analista está envolvida no processo podem acontecer algumas ponderações sobre a eficácia do método. Mendes et al., (2016), com o estudo com objetivo de validar o método de microscopia para detecção de impurezas no café, realizou 420 análises com três analistas diferentes, partindo com 70 amostras em duplicata no estado de Minas Gerais. Embora tenham obtido variações, o método foi considerado satisfatório e adequado para detecção de impurezas podendo contribuir com as ações fiscais (MENDES et al., 2016).

Como mencionado anteriormente, os chás também são alvos de adulterações e fraudes. Em Santa Catarina, um estudo com oito amostras comerciais de erva mate, muito consumida na região, foi realizado com o objetivo de analisar a qualidade do produto disponível. Para detecção de sujidades leves foram aplicados os métodos de flutuação seguido da análise em microscópios ótico e estereoscópio, que permitiiram evidenciar a presença de ácaros, insetos, pelos de roedor e cabelo, estando em desacordo com a legislação vigente. A técnica de sedimentação em clorofórmio permitiu evidenciar a presença de cristais de açúcar (sacarose), que não constava descrito como ingrediente no rótulo, indicando fraude, pois a utilização do açúcar diminui o sabor amargo da erva aumentando a aceitação no mercado, além de aumentar o peso com produto não declarado, desta forma lesionando o consumidor (MENDES et al, 2007). Os resultados evidenciam falhas nas boas práticas de fabricação, sendo necessária a adoção de medidas que garantam a qualidade do produto de forma a contribuir com saúde do consumidor, visto que os achados de sujidades e matérias estranhas representam um risco à saúde humana.

Em outro estudo realizado com onze amostras de *Pimpinella anisum* L. (erva-doce) comercializadas no Rio de Janeiro, o objetivo foi investigar matéria estranha prejudicial ou não à saúde humana com a finalidade de avaliar a qualidade dos chás. Santos et al, (2015) também mencionam neste estudo a importância de conter no rótulo o nome científico do vegetal, bem como a parte do vegetal utilizada, com intuito de evitar confusões e/ou fraudes por indução uma vez que, fique claro para o consumidor a venda de *Foeniculum vulgare* L., erva-doce nacional, como *Pimpinella anisum* L., erva-doce importada. Foram aplicados os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC que compreende o processo de tamisação com posterior análise microscópica que permitiu evidenciar a presença de coentro, caule, folhas, pedaços de madeira e outros frutos, que embora sejam considerados matéria estranha não prejudicial à saúde, não estavam declarados no rótulo, caracterizando possível fraude do produto. Além de evidenciar a presença de pelo de roedor, fragmentos de inseto, areia e terra. O estudo concluiu que todas as amostras analisadas estavam insatisfatórias, estando em desacordo com as legislações vigentes, oferecendo risco à saúde dos consumidores (SANTOS et al, 2015). Desta forma, mais uma vez se destaca a necessidade da adoção de boas práticas de fabricação, bem como ações fiscalizadoras das autoridades sanitárias de modo a promoverem segurança à saúde do consumidor.

O uso de condimentos e especiarias também tem se tornado mais comum e o consumo tem aumentado. Especiarias como o açafrão, a pimenta preta e a páprica estão sujeitas a adulterações e fraudes, constando entre o rol dos 25 alimentos com maior número de registros de fraudes (PAULI-YAMADA et al, 2021).

Rodrigues et al, (2005), no estado de São Paulo em 1998, realizou uma pesquisa através dos elementos histológicos característicos à presença de matéria estranha em 182 amostras distribuídas em salsa, manjerona e orégano. Eles utilizaram a técnica que

consiste no clareamento da amostra com hipoclorito de sódio, seguida da observação em microscópio após filtração lavagem e preparo da lâmina. Os resultados mostraram apenas a presença de elementos histológicos característicos de cada um dos condimentos analisados, descartando a evidência de fraude. Porém, para os métodos de tamisação e flutuação descritos pela AOAC, todas as amostras evidenciaram a presença de fragmentos, larvas e ovos de insetos; ácaros e pelo de roedor. Esses resultados mais uma vez contribuem para que os fabricantes destes produtos sejam alertados a investirem em métodos de qualidade que melhorem as práticas de fabricação, a fim de ofertarem ao consumidor um produto seguro a sua saúde.

Em Campina Grande, com o objetivo de avaliar a presença de adulterantes na *Curcuma longa* L. (açafrão-da-terra) foi realizado um estudo com dez amostras adquiridas em Campina Grande e Pocinhos. Testes de ativação do amido e de reação colorimétrica qualitativo com lugol foram realizados. No teste de ativação, a cúrcuma, depois de homogeneizada em água e aquecida, se apresenta encorpada e, no teste colorimétrico qualitativo, a coloração final da solução se apresenta violeta ou azul quando há presença de amido. Os resultados mostraram que, no teste de ativação, uma amostra foi positiva, já com o teste colorimétrico, quatro amostras apresentaram uma coloração azul escuro/violeta indicativa da presença de amido. Uma das amostras em que os testes para identificação de amido evidenciaram negativo, o pó se apresentou com uma cor castanha clara e cheiro característico do condimento cominho (*Cuminum cyminum* L.), o que é uma prática a troca parcial de uma especiaria com características parecidas por outra de menor valor. Devido ao crescimento no consumo de cúrcuma por suas propriedades benéficas ao organismo e ao valor elevado de comercialização, esta tem sido alvo para adulterações e fraudes com objetivo de ganho econômico por parte de quem a comercializa. Desta forma, os resultados revelam adulterações em algumas amostras evidenciando a importância de os órgãos fiscalizadores estarem preparados com técnicas de identificação eficazes, de forma a reprimir tais práticas, visando à proteção econômica bem como prevenir riscos à saúde do consumidor (MELO et al, 2021).

Em 2019, no estado de São Paulo, com objetivo de avaliar a presença de matérias estranhas, 43 amostras de páprica (*Capsicum annuum* L.) foram analisadas. Neste estudo, foram aplicados os métodos de análise microscópica de alimentos, por meio do isolamento de elementos histológicos e os métodos de extração oficiais descritos na AOAC, no qual 30% das amostras foram evidenciadas com adição de diferentes componentes. Além do pimentão, o elemento com maior frequência encontrado foi o amido de *Zea mays* L. (milho), acompanhado principalmente de *Bixa orellana* L. (urucum). A associação de amido de milho e urucum apresenta grande semelhança à páprica, dificultando sua detecção e favorecendo a fraude. Foram encontrados em 91% das amostras fragmentos de pelo de roedor, e em 79% das amostras fragmentos de insetos. Em relação à legislação sanitária, 88% das amostras foram consideradas insatisfatórias, destas, 30% por estarem adulteradas

e 77% por apresentarem quantidade de matérias estranhas acima do limite tolerado (PAULI-YAMADA et al., 2021). Os resultados deste estudo reafirmam a necessidade de intensificação das autoridades sanitárias quanto a fiscalização nesse tipo de produto visando à garantia de sua oferta à população de forma segura colaborando com a saúde da população do consumidor.

Em Ribeirão Preto, 320 amostras de quatro tipos diferentes de farináceos foram analisadas com objetivo de avaliar os níveis de contaminação de matérias estranhas, microorganismos e as condições sanitárias. Foram evidenciados por métodos de análise microscópicos e microbiológicos pelos de roedor em farinha de mandioca e polvilho; insetos e seus fragmentos, larvas e pelos de roedor nos farináceos a granel; coliformes em fubá; *Bacillus cereu*s em fubá, farinha de mandioca e polvilho; ácaros e outras matérias estranhas não reconhecidas nos farináceos embalados (PRADO et al, 2005). Estes resultados colaboram com subsídios para que novas pesquisas, discussões e ações relacionadas à legislação sejam abordadas por se tratar de uma questão de saúde pública envolvendo milhares de pessoas.

Em São Paulo, após a denúncia de um consumidor ao lesionar a região bucal com corpo estranho pontiagudo, contido em um panetone de frutas cristalizadas comercializado em um supermercado, foi encaminhado ao laboratório uma amostra para análise, onde o método de microscopia associada à comparação com ilustrações e imagem de estruturais vegetais possíveis foi utilizado. Foram encontradas farpas laterais dos espinhos de *Opuntia* fícus-indica (Figo-da-Índia). A identificação e a descrição morfológica, principalmente do tamanho, coloração e formato do vegetal descrito neste estudo fornecem material de referência para análises posteriores, assim como apontam pontos críticos na cadeia de produção, auxiliando os envolvidos a atuarem na melhoria das Boas Práticas de Fabricação (PRADO et al, 2010).

No estado, outro estudo com alimentos embalados de cestas básicas evidenciaram a presença de elemento histológico vegetal característico nos produtos, com exceção do sal. Entretanto, outros elementos foram identificados em amostras de sal, açúcar e café torrado e moído, que sugerem uma contaminação acidental e/ou fraude, indicando, deste modo, falhas no processo de fabricação ou adulteração intencional do fabricante. Na amostra de arroz, farinha de mandioca e biscoito recheado, os autores encontraram pelos de roedor, considerados matérias estranhas prejudiciais à saúde humana, segundo a RDC 14/2014. Em todos os alimentos, encontraram ainda outras matérias estranhas não prejudiciais à saúde, mas estes achados indicam falhas na adoção das boas práticas de fabricação. O açúcar apresentou a menor porcentagem de matérias estranhas por amostra (30%), enquanto a farinha de trigo e o biscoito apresentaram a maior (90,0%). Os dados deste estudo puderam subsidiar as ações da vigilância sanitária, contribuindo na melhoria das boas práticas de fabricação dos produtos, aumentando a qualidade destes, e consequentemente, protegendo a saúde da população (DAROS et al, 2010).

3 | METODOLOGIA

Para elaboração e desenvolvimento deste trabalho, foi realizado um levantamento bibliográfico com as evidências disponíveis sobre o tema investigado "Identificação microscópica de adulterantes e matérias estranhas nos alimentos e os impactos na saúde pública". Para isto, realizou-se uma revisão integrativa da literatura científica que permite a busca, a avaliação crítica e a síntese das evidências disponíveis. Foram avaliados estudos no país sobre os tipos de alimentos mais comumente envolvidos em fraudes, os diferentes tipos de adulterantes, os métodos microscópicos envolvidos em sua identificação, bem como, a relevância para as autoridades sanitárias devido aos impactos na saúde do consumidor. Para tanto, a revisão seguiu a metodologia proposta por Ganong (1987).

Para esta revisão, as principais questões norteadoras foram: "O que existe descrito na literatura científica sobre adulteração e fraude de alimentos no Brasil e os impactos na saúde pública"? "Quais alimentos estão mais comumente envolvidos em adulterações e fraudes"? "Quais tipos de adulterantes são mais utilizados e como são identificados pela microscopia"?

Para consulta, foram verificadas as bases de dados SCIELO, PubMed e Portal Periódico Capes. Foram utilizados os seguintes critérios de seleção: publicações disponíveis online, em Português ou Inglês; estudos conduzidos por pesquisadores brasileiros ou estrangeiros. Os termos utilizados para busca foram: "adulterants", "microscopy" e "matter stranger" combinados com operador "AND" "coffee", "tea", "infusion", "spice", "condiments", "starch" e "flour". Os estudos encontrados em mais de uma base de dados foram considerados apenas uma vez. Para garantir a análise adequada dos dados dos estudos selecionados, estabeleceu-se um instrumento de análise com avaliação do título do estudo, a instituição-sede, o local em que o trabalho foi publicado, a metodologia empregada, bem como a avaliação do rigor metodológico.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo de revisão da literatura possibilitou evidenciar que a presença de adulterantes e matérias estranhas em alimentos de forma intencional ou não, é uma realidade comum atualmente, assim como registros relatam que também fora no passado. Os alimentos mais comumente envolvidos em fraudes são o café, chás e especiarias e condimentos, que tiveram como principais adulterantes os amidos, material histológico da mesma espécie, mas que não fazem parte da composição do alimento ou espécies diferentes. Adulterantes e matérias estranhas também evidenciam falhas nas boas práticas de fabricação do produto, representando risco em potencial para a saúde do consumidor. Embora seja difícil obter o alimento completamente isento de sujidades, é possível que o fabricante adote medidas de melhorias nas práticas de fabricação de seu produto de forma a diminuir o risco contaminação. Os métodos analíticos de microscopia se mostraram

eficientes e adequados para análise desses parâmetros, servindo de subsídios para as fiscalizações dos órgãos governamentais.

Contudo, torna-se necessário que os órgãos governamentais de vigilância sanitária e as autoridades de fiscalização estejam preparados de forma adequada, para atuarem com fiscalizações sistemáticas com objetivo de detectar e inibir a prática de fraudes nos alimentos, bem como as más condições higiênicas e sanitárias, contribuindo para qualidade dos alimentos que impactam diretamente na saúde pública.

REFERÊNCIAS

AMBONI, R. D. M. C.; FRANCISCO, A.; TEIXEIRA, E. **Utilização de microscopia eletrônica de varredura para detecção de fraudes em café torrado e moído**. *Rev Food Science and Technology*, v. 19, n. 3, p. 311-313, 2021.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. HORWITZ, W. (Ed.). 17.ed. v.1. Rockville: AOAC Intl. 2000.

ASSIS, N. M.; MARQUES, C. A.; SILVA, M. C. **Avaliação microscópica de amostras comerciais de café**. *Rev Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 27, n. 13, p. 1-13, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Diário Oficial da União, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico de espécies vegetais para o preparo de chás. Diário Oficial da União, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. DECRETO nº 45585, de 27 de dezembro de 2018. Dispõe sobre o regulamento administrativo do Código de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária, de que trata a Lei Complementar nº 197, de 27 de dezembro de 2018, no tocante ao licenciamento sanitário e aos procedimentos fiscalizatórios, e dá outras providências. Diário Oficial da União, DF, 2018.

DAROS, S. M. G.; PRADO, S. P. T.; MARTINI, M. H.; GRACIANO, R. A. S.; STANCARI, R. C. A.; GONZAGA, Z. M.; CHIARINI, P. F. T.; YAMAMOTO, I. T.; SILVA, M. L. P.; SILVA, A. M.; MARCIANO, M. A. M.; NOGUEIRA, M. D.; ATUI, M. B. **Alimentos embalados que compõem as cestas básicas: avaliação microscópica e da rotulagem.** *Rev do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, n. 6, p. 525-530, 2010.

ESTADO DE MINAS. Belo Horizonte, 21/05/2019. Seção Economia. Disponível em: <https://www.em.com.br/app/noticia/economia/2019/05/21/internas_economia,1055467/cafe-e-segunda-bebida-mais-consumida-entre-brasileiros-mostra-pesquis.shtml>. Último acesso em 17/08/2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos Químicos para análise de Alimentos. v. 1, 3 edição. São Paulo: IMESP, 2008.

IVISA. Instituto Municipal de Vigilância Sanitária, Vigilância de Zoonoses e de Inspeção Agropecuária – IVISA-Rio. Disponível em: <https://www.rio.rj.gov.br/web/vigilanciasanitaria/o-ivisa>. Último acesso em 18 de agosto de 2021.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR. 1997.198 p.

MELO, M. C. S.; RODRIGUES, P. L.; SILVA, V. C. M.; VILAR, M. S. A.; VILAR, D. A. *Rev Research, Society and Development*, v. 10, n. 7, p. 2021.

MENDES, M. R. O.; QUADRI, M. B.; QUADRI, M. G. N. **Matérias estranhas em erva-mate (*Ilex paraguariensis St Hil*) beneficiada no estado de Santa Catarina, Brasil**. *Rev do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, n. 5, p. 103-107, 2007.

OLIVEIRA, F.; RITTO, J. L. A.; JORGE, L. I. F.; BARROSO, I. C. E.; PRADO, B. W. **Microscopia de alimentos: Exames microscópicos de alimentos in natura e tecnologicamente processado**. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, ed 1, 2015.

PRADO, S. P. T.; ABUD, A. S.; PIRES, M. H.; PANSARIN, E. R. **Aplicação da análise microscópica na investigação de espinhos de *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill. (Figo da Índia) presentes alimento**. *Rev do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, n. 4, p. 580-583, 2010.

PRADO, S.P.T.; FRANCO, A. R.; SOUZA, L.; OLIVEIRA, M. A.; CORREIA, M. **Contaminação por matérias estranhas e microrganismos em farináceos comercializados em Ribeirão Preto, SP**. *Rev do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, n. 8, p. 237-244, 2005.

PAULI-YAMADA, L. F.; AQUINO, C. I.; SILVA, A. M.; MARCIANO, M. A. M.; MATTOS, E. C.; NOGUEIRA, M. D. **Estudo microscópico de páprica (Capsicum annuum L.): detecção de fraudes e matérias estranhas**. *Rev Visa em Debate Sociedade, ciência e tecnologia*, n. 6, p. 123-128, 2021.

RODRIGUES, M. M. S.; ATUI, M. B.; CORREA, M. et al. **Métodos de análise microscópica de alimentos: isolamentos de alimentos histológicos**. Instituto Adolfo Lutz. V.1, 1999.

SILVA, J. C.; SILVA, N. A. B.; SILVA, S. L. R.; SILVA, L. S.; JUNQUEIRA, M. S.; TROMBETE, F. M. **Avaliação microscópica e físico-química de café torrado e moído comercializado em Sete Lagoas-MG**. *Rev Scientia Plena*, v. 15, n. 6, p. 1-8, 2019.

VALENZUELA, V.C.T.; MOREIRA, W.A. Utilização de espécies vegetais como fraudes em café torrado e moído. In: XVI Encontro Nacional e II **Congresso Latino-Americano de Analistas de Alimentos, 2009, Belo Horizonte,** 2009 ENAAL, 2009.

SANTOS, J. M.; ABRANTES, S. M. P. Presença de matérias estranhas em erva-doce, *Pimpinella anisum* L. *Rev* Vigil. sanit. *debate* v.3, n. 4, p. 120-127, 2015.

NOTÍCIAS AGRÍCOLAS. 24/05/2021. Seção Notícia café. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/cafe/288625-maior-produtor-de-cafe-do-mundo-brasil-possui-12-indicacoes-geograficas-do-grao.html#>. Último acesso em 02/11/2021.

CAPÍTULO 17

ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DO ÓLEO E DA NANOEMULSÃO DE *MAURITIA FLEXUOSA* NA INTERAÇÃO ENTRE FAGÓCITOS E *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

Data de aceite: 01/11/2021

Marianny Carolina Custódio da Silva Brito

Núbia Andrade Silva

Victor Pena Ribeiro

Adenilda Cristina Honório-França

Eduardo Luzia França

Kellen Menezes de Oliveira

Silvana de Oliveira Castro

Juliana Francyelle Martins de Camargo

Guilherme Alves Sena

Valmir André Peccini

Mateus Abreu Milani

Ana Beatriz dos Santos Matsubara

Matheus Leal Lira Alves

Lucélia Campelo de Albuquerque Moraes

RESUMO: As parasitoses intestinais, sobretudo as causadas por protozoários, são um grave problema de saúde pública. Entre elas, a amebíase, ocasionada pela *Entamoeba histolytica*, cujo tratamento é feito com nitroimidazólicos que causa diversos efeitos colaterais e toxicidade. O óleo extraído do buriti, fruto do cerrado, se insere nesse panorama por ser cicatrizante, energético, vermífugo e rico em carotenóides, ácidos graxos e tocoferóis. A nanociência e a nanotecnologia aplicadas à saúde têm fomentado pesquisas que buscam contornar adversidades relacionadas às propriedades físico-químicas de princípios ativos oriundos de plantas medicinais. Nesse sentido, as nanoemulsões têm sido usadas como veículos de entrega modificada de medicamentos ou fitoterápicos. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade imunomoduladora do óleo e da nanoemulsão do buriti na interação entre fagócitos e *E. histolytica*. Para utilização do óleo foi realizada coleta e caracterização do mesmo, seguido da padronização da nanoemulsão. A partir de células mononucleares coletadas de sangue periférico humano e culturas de cepas axênicas de *E. histolytica* realizou-se a estimulação entre os grupos na presença do óleo e da nanoemulsão, comparado ao grupo controle. Para determinar a interação entre o parasito e células humanas realizou-se a quantificação de ânion superóxido, avaliação da leucofagocitose, atividade amebicida e viabilidade celular. A análise estatística foi feita por análise de variância (ANOVA, $p<0,05$), seguida pelo teste de Tukey. Resultados demonstraram que o óleo teve boa atividade amebicida e baixa toxicidade para as células, porém a nanoemulsão apresentou melhores resultados. Já na leucofagocitose, a nanoemulsão diminuiu a capacidade do parasito abaixo de 20% e aumentou a produção de ânion. Conclui-se que a nanoemulsão do buriti modulou as atividades biológicas das células fagocíticas na presença do parasito sem interferir na sua viabilidade e aumentou a produção de ânion na interação entre células e parasito.

PALAVRAS-CHAVE: Amebíase, Buriti,

nanoemulsão, viabilidade celular.

IMMUNOMODULAACTIVITY OF THE OIL AND NANOEMULSION OF MAURITIA FLEXUOSA IN THE INTERACTION BETWEEN PHAGOCYTES AND ENTAMOEBA HISTOLYTICA

ABSTRACT: Intestinal parasites, especially those caused by protozoa, are a serious public health problem. Among them, amoebiasis, caused by *Entamoeba histolytica*, treated with nitroimidazoles, which causes several side effects and toxicity. The oil extracted from the buriti, a cerrado fruit, is part of this scenario as it is healing, energetic, vermifuge and rich in carotenoids, fatty acids and tocopherols. Nanoscience and nanotechnology applied to health have promoted research that seeks to overcome adversities related to the physicochemical properties of active principles from medicinal plants. In this way, nanoemulsions have been used as modified delivery vehicles systems for drugs or herbal medicines. Therefore, the aim of this work was to evaluate the immunomodulatory activity of buriti oil and nanoemulsion in the interaction between phagocytes and *E. histolytica*. To use the oil, it was collected and characterized, followed by standardization of the nanoemulsion. From mononuclear cells collected from human peripheral blood and cultures of axenic strains of *E. histolytica*, stimulation was performed between the groups in the presence of oil and nanoemulsion, compared to the control group. To determine the interaction between the parasite and human cells, the quantification of superoxide anion, leukophagocytosis, amoebic activity and cell viability were performed. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA, $p<0.05$), followed by Tukey's test. Results showed that the oil had good amebicidal activity and low toxicity to cells, but the nanoemulsion showed better results. In leukophagocytosis, the nanoemulsion reduced the parasite capacity below 20% and increased anion production. It was possible to conclude that the Buriti nanoemulsion modulated the biological activities of phagocytic cells in the presence of the parasite without interfering with its viability and increased anion production in the interaction between cells and parasite.
KEYWORDS: Amebiasis, Buriti, cell viability, nanoemulsion, reactive oxygen species.

1 I INTRODUÇÃO

A amebíase é uma infecção parasitária provocada pelo protozoário *Entamoeba histolytica,* descoberta por Lösch em 1875 na Rússia, em um paciente com disenteria recidivante de evolução grave e letal. Após análise das evacuações e do exsudato das lesões encontradas "post mortem", Lösch se deparou com o microrganismo atualmente descrito como E. histolytica (Garcia-Zepeda et al., 2007; Dulgheroff et al., 2015). A amebíase possui distribuição mundial, com maior incidência em países de clima tropical.

A *E. histolytica* afeta cerca de 50 milhões de pessoas no mundo. É a doença parasitária com maior taxa de mortalidade, sendo responsável por mais de 100.000 mortes anualmente (Castro et al., 2019; Wang & Kathan, 2020). Das suas formas encontradas são os trofozoítos, a forma invasiva, pois possuem variabilidade de tamanho e sua motilidade é realizada pela emissão de pseudópodes que exerce todas as atividades necessárias à sua sobrevivência, nutrem-se de restos celulares e em sua forma patogênica pode conter

hemácias nos vacúolos digestivos (Cordeiro & Macedo, 2007; Shirley et al., 2018). O processo no qual os trofozoítos fagocitam eritrócitos é denominado eritrofagocitose, que ocorre frequentemente na forma invasiva da amebíase (Silva, 2016).

O ciclo de vida da *E. histolytica* se inicia quando o homem ingere o parasito em estágio de cisto maduro (forma infectante), por meio da ingestão de água, alimentos e/ou mãos contaminadas (Cordeiro & Macedo, 2007; Almeida & Leite, 2020) O desencistamento ocorre no intestino delgado, originando o metacisto que sofre divisão binária e liberam trofozoítos que migram para o intestino grosso até o colón, onde se fixam e podem sofrer o processo de encistamento originando novos cistos que eventualmente serão excretados nas fezes, dando continuidade ao seu ciclo biológico (Huston, 2004). No intestino, crescem e se alimentam ingerindo bactérias e partículas nutritivas do meio, multiplicam-se por divisão binária simples, e ao se desprenderem da mucosa intestinal, transformam-se em pré-cistos e posteriormente em cistos (Dolabella, 2007). Devido à proteção conferida pela parede, os cistos podem sobreviver por dias e até semanas em ambientes inóspitos e, caso os dejetos fecais contaminados não forem adequadamente descartados, poderão infectar outros indivíduos (Samie et al., 2012).

A adesão dos trofozoítos à célula do hospedeiro, após a penetração da ameba na mucosa, ocorre a liberação de enzimas proteolíticas que têm sido apontadas como os principais fatores de virulência da *E. histolytica*. Essas moléculas inserem-se na membrana da célula-alvo formando canais iônicos causando a lise celular e corroborando com a resposta inflamatória (Mirelman et al., 2008). Além disso o parasito libera cisteína-proteinases, que são responsáveis pela degradação da matriz extracelular, facilitando a invasão tecidual (Mirelman et al., 2008; Lejeune et al., 2009; Ghosh et al., 2019). Estas cisteínas-proteinases secretadas pelos trofozoítos são capazes de degradar imunoglobulinas (IgA e IgG) presentes na mucosa do hospedeiro (Santos & Soares, 2008).

Em sua forma não invasiva, os trofozoítos permanecem no lúmen intestinal de portadores assintomáticos e são eliminados nas fezes como cistos. Contudo, na forma invasiva os trofozoítos migram por meio da veia mesentérica superior até o fígado podendo alcançar outros órgãos como, pulmão, cérebro, ocasionando a amebíase extraintestinal (Braz et al., 2015; Nasrullah et al., 2017).

A virulência da *E. histolytica* é multifatorial e influenciada por fatores do hospedeiro, intrínsecos do parasito e do microambiente de evasão (Cordeiro; Macedo, 2007). Sabe-se também que a *E. histolytica* é capaz de inibir a produção de metabólitos ativos de oxigênio por monócitos, supostamente contribuindo na prevenção da morte do parasito durante a leucofagocitose, processo de facogitose que a própria ameba realiza, e se inicia com a ligação da lectina Gal/GalNAc (França-Botelho et al., 2010; Carrero et al., 2019). Em infecções amebianas, a fagocitose, bem como a indução de apoptose de células do hospedeiro pelos trofozoítos, parece limitar a inflamação e possibilitar a evasão do parasito da resposta imunológica (Huston, 2004).

Para impedir a evasão da resposta imunológica, diversos componentes da imunidade inata participam do mecanismo de defesa contra os protozoários (Garcia-Zepeda et al., 2007). Uma das barreiras é a mucosa intestinal íntegra composta por células produtoras de muco, que previnem a adesão do parasito às células epiteliais (Hondo et al., 2017).

Quando a barreira da mucosa não está íntegra a ameba consegue penetrar na mucosa intestinal e evoluir com o processo de adesão celular. Isso ocorre porque as amebas produzem enzimas proteolíticas que atuam no processo de citólise e de adesão trofozoítica na superfície da célula, promovendo maior dano tecidual à célula-alvo (Santos & Soares, 2008; Silva & Gomes 2005).

Como consequência, ocorre uma resposta inflamatória aguda com presença de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos (Silva & Gomes 2005) que representam uma importante linha de defesa, sendo essenciais na patogênese da amebíase, uma vez que ativam trofozoítos da *E. histolytica* e, quando estimulados, apresentam atividade amebicida que aparenta ser mediada por óxido nítrico (NO) (Moonah et al., 2013).

Para a resposta imunológica ser eficaz contra a ameba é necessária a participação da imunidade adaptativa, isso se dá a partir da produção de anticorpos da classe IgA secretória (Alla et al., 2012). Além disso, a imunidade celular também realiza o controle da infecção. Um estudo realizado *in vivo* revela que após a supressão da imunidade celular os animais apresentaram quadro clínico grave, acompanhado de invasão tecidual (Tsutsumi & Shibayama, 2006).

O diagnóstico clínico da amebíase é dificultado por não apresentar um padrão sugestivo. O indivíduo com disenteria amebiana aguda apresenta dores abdominais, e, em alguns casos, náuseas, vômitos e cefaleia (Tanyuksel & Petri, 2003; Santos & Soares, 2008), O tratamento de escolha para a amebíase é o metronidazol, amebicida utilizado mundialmente apesar de apresentar diversos efeitos colaterais, como náusea e dor abdominal (Ceruelos et al., 2019).

Uma espécie que merece destaque é a *Mauritia flexuosa,* conhecida como buriti, sendo encontrada em regiões alagadas e úmidas do Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil (Batista et al., 2012). Rica fonte de fitoquímicos antioxidantes como: flavonóides, tocoferóis, ácido fenólico e vitamina A e E, agentes que neutralizam as ações dos radicais livres (Reis & Schmiele 2019; Araújo, 2019).

O óleo extraído da polpa do fruto de buriti desperta interesse por apresentar propriedades químicas e farmacológicas, utilizado pela população para fins medicinais, tratamento de ferimentos, vermífugo, auxílio no processo de cicatrização, dentre outros (Batista et al., 2012; Reis & Schmiele 2019). Diante de sua ampla utilização, o potencial terapêutico atribuído ao buriti abre perspectiva de utilizá-lo como fitoterápico além de constituir uma alternativa eficaz no controle de parasitos gastrintestinais (Batista et al., 2012).

A nanotecnologia é o ramo da ciência que apresenta o potencial de manipular e

organizar estruturas desde o nível molecular até o atômico (Allan, 2003), é multidisciplinar e possui aplicações nas áreas da medicina, engenharia, física, química, biologia, entre outras (Santos, 2019).

É grande o interesse em produtos obtidos a partir de plantas, uma vez que apresentam alto potencial farmacológico. Nas últimas décadas, tem crescido o desenvolvimento tecnológico a fim de buscar princípios ativos oriundos de plantas medicinais, contribuindo assim para as inovações e pesquisas relacionadas à nanociência e nanotecnologia (Vaucher et al., 2015). O desenvolvimento de novos sistemas transportadores de fármacos tem aumentado nos últimos anos com objetivo de aumentar a eficácia e reduzir a toxicidade (Côrtes‒et al., 2013). Nesse contexto, destaca-se as emulsões com tamanho em escala nanométrica - nanoemulsão - caracterizadas por exibirem uma excelente estabilidade em suspensão e melhorarem a capacidade de administrar medicamentos. (Reis, 2019).

Considerando a composição do óleo de buriti e a sua possível utilização farmacológica, a nanoencapsulação surge como uma possibilidade de melhorar a eficácia e aumentar a estabilidade de seus componentes farmacologicamente ativos, facilitando a penetração em certas barreiras. Neste trabalho, a escolha da nanoemulsão foi exatamente pela estabilidade dos bioativos do óleo, que permitem a avaliação da atividade biológica das células e a interação com o parasito, mantendo seus componentes preservados.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta, obtenção e preparo

Os frutos do buriti, dos quais foi extraído o óleo utilizado no presente estudo, foram coletados após queda natural, no município de Nova Xavantina (latitude 14° 44:'01.1' Sul, longitude 52° 41.1' Oeste), Mato Grosso, no período de amadurecimento dos frutos (agosto a janeiro). Em seguida, foi feita a classificação taxonômica da árvore, realizada através da identificação de suas folhas e frutos no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso-CUA/UFMT, com registro n° 12.555.

As polpas foram submetidas à extração do óleo como solvente por evaporação, obtendo assim o óleo limpo alaranjado (13% de rendimento). O óleo de buriti foi então diluído em Dimetilsulfóxido a 2% (DMSO) e foi realizada uma diluição para obtenção da concentração de 10ng/mL de óleo de buriti.

2.2 Hidrodestilação do óleo de Buriti

Foi realizada a hidrodestilação do óleo de buriti com objetivo de obtenção de substâncias voláteis. A caracterização química foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. O tempo de destilação foi de aproximadamente 3 h. O hidrolato resultante foi submetido ao processo de partição líquido:líquido. A fração orgânica foi separada, filtrada na presença de sulfato de sódio anidro e concentrada em

rotaevaporador Buchi®.

2.3 Análise dos voláteis por Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Foi realizada a solubilização em acetato de etila grau cromatográfico Sigma-Aldrich. O volume obtido foi transferido para o cromatógrafo de fase gasosa modelo GC-2010 Shimadzu equipado com injetor automático AOC-20i, com coluna cromatográfica RTX-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) Restek, acoplado a um espectrômetro de massas equipado. A identificação dos compostos foi realizada por comparações dos padrões de fragmentação dos compostos existentes nas bibliotecas espectrais como: Wiley Library, Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds (FFNSC), National Institute of Standards and Technology (NIST Webbook) e com o índice de retenção (Equação 1) experimentalmente calculado utilizando uma mistura de série homóloga de hidrocarbonetos de C8-C40 (Sigma-Aldrich) através da comparação com os valores de índice de retenção descritos na literatura disponível online no “The Pherobase”. Os resultados foram expressos em porcentagem relativa de cada substância em relação à área total do cromatograma de cada amostra.

IR= 100 X Log(trx- trcn-1)Log(trcn- trcn-1)+100 X Cn-1 (equação 1)

Onde: **trx** é o tempo de retenção do analito de interesse, **trcn** é o tempo de retenção do hidrocarboneto com maior tempo, **trcn-1** é o tempo de retenção do hidrocarboneto com menor tempo, **Cn** é o número de carbono do hidrocarboneto com maior tempo, e **Cn-1** é o número de carbono do hidrocarboneto com menor tempo.

2.4 Preparação e análise da nanoemulsão contendo o óleo de Buriti

A nanoemulsão foi preparada no Laboratório de Nano&Biotecnologia (LANAB) da Universidade Federal de Goiás - GO. A análise do tamanho foi realizada por espectroscopia de correlação fotônica em equipamento ZetaSizer NanoSeries (Malvern Instruments, Reino Unido) no laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal de Goiás.

2.5 Sujeitos e aspectos éticos

Foram coletadas amostras de sangue periférico de doadores clinicamente saudáveis, na faixa etária de 20 a 40 anos. Todos os doadores estavam cientes no momento da coleta que o sangue seria destinado a fins de pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido

2.6 Obtenção e separação de amostras de sangue periférico humano

Foram coletados em média 5 mL de sangue periférico de cada doador em tubos contendo EDTA, e processadas imediatamente para obtenção dos leucócitos. Foi realizada a separação das populações celulares em gradiente de densidade com Ficoll-Paque (Pharmacia, Upsala, Suécia), durante 40 min a 160 x g em centrífuga. O anel enriquecido de células mononucleares foi retirado e reservado.

Foi realizada a contagem em Câmara de Neubauer, as células foram utilizadas para os ensaios de liberação de ânion superóxido, de viabilidade, leucofagocitose e atividade amebicida.

2.7 Parasito

Os trofozoítos de *E. histolytica* foram mantidos em para cultivo axênico. Foram realizadas subculturas de *E. histolytica* Cepa HM-1 assegurando sua viabilidade e crescimento. Todas as culturas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Amebíase da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG. Os parasitos foram mantidos no Laboratório de Cronoimunomodulação e Imunologia da relação materno-infantil da Universidade Federal de Mato Grosso - CUA/UFMT, em temperatura adequada, em estufa a 37°C, sendo realizado repiques garantindo a utilização destes em fase exponencial de crescimento.

2.8 Atividade funcional das células mononucleares

Para avaliar a atividade funcional das células, foram incubadas os fagócitos com as cepas de *E. histolytica* durante duas horas a 37°C em estufa a 5% de CO2. Após esse período realizou se as seguintes etapas:

2.9 Atividade funcional das células mononucleares

2.9.1 Viabilidade celular

A viabilidade das células mononucleares (MN) do sangue periférico humano foi avaliada pela técnica de laranja de acridina (Bellinati-Pires et al., 1989). O botão celular "pellet" foi corado com 200 µL de laranja de acridina (14,4 mg/mL) (*Sigma, St Loius, USA-2mg/mL*). Posteriormente, foram preparadas lâminas e analisadas em microscopia de fluorescência (*Nikon Eclipese E-200*). O índice de viabilidade celular foi obtido através da contagem de 100 células, através da interpretação: células vivas as que possuíam coloração verde e células mortas as que possuíam coloração alaranjada, obtendo-se uma relação de células vivas/mortas (França et al., 2011).

2.9.2 Atividade amebicida

A atividade amebicida das células MN do sangue periférico humano foi avaliada pela técnica de alaranjado de acridina (Bellinate-Pires et al., 1989). Volumes iguais de suspensão de *E. histolytica* e de suspensão de células foram estimulados com o óleo de buriti e nanoemulsão, sob agitação a 37ºC, por 30 minutos. As células foram contadas em microscópio de fluorescência (Nikon-Eclipse E200).

2.9.3 Dosagem de ânion superóxido

Para quantificação de liberação de ânion superóxido pelas células fagocíticas, sendo determinada pela utilização do cromógeno citocromo C (Sigma, St Louis, MO, USA),

segundo o método de Pick e Mizel (1981) adaptado por Honório-França et al., (1997).

As células e *E. histolytica*, foram ressuspendidas em PBS glicosado contendo ferricitocromo C (concentração de 2mg/mL). As suspensões foram colocadas em placas de cultura celular a 37°C por 1 hora. A leitura foi feita em espectrofotômetro de placa com filtro de 540nm (Thermo Plate TP-Reader). A concentração do ânion superóxido foi calculada segundo o método adaptado de Pick e Mizel (1981), no qual é estabelecida a seguinte relação, concentração de:

$$O2^- = DO \times 1006{,}3 \text{ nmol/mL}$$

Os resultados foram obtidos pela análise em microscópio de fluorescência.

2.10 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi obtida através da análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, utilizando o programa BioEstat® 5.0. Os resultados obtidos foram considerados significativos quando a análise estatística apresentou p-valor menor que 0,05 ($p<0.05$).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Volátil

Na tabela 1 estão presentes todos os componentes voláteis obtidos pelo método citado. De acordo com ALBUQUERQUE et al., (2003) o óleo de buriti é basicamente composto de tocoferol, carotenóides e em maiores quantidades ácidos graxos de cadeia longa, como ácido palmítico e ácido oléico. A composição e valor nutricional do óleo de buriti bruto pode variar de acordo com a estação e processos de extração.

	Tr	% Área		MM	IR
1	30.3	0.26	2,4-dimetilheptano	128	788
2	34.0	0.15	5-metil-5-propilnonano	184	1229
3	34.6	0.23	Isotetradecano	198	1399
4	34.8	0.04	Tridecanol	242	1670
5	35.2	0.35	Octadecano	254	1810
6	36.1	2.06	Ácido palmítico	256	1961
7	37.1	0.55	Nonadecano	268	1990
8	37.2	0.22	Icosano	282	2019
9	37.6	0.08	Metil-heptadecanoato	284	2008
10	38.3	0.07	7-Metil-octadecenoato	296	2085
11	38.5	2.15	Ácido oleico	282	2175
12	38.8	1.65	Docosano	300	2200
13	40.5	8.03	Tetracosano	338	2407
14	42.1	15.77	Pentacosano	352	2500
15	43.7	17.59	Ácido tricosanoico	354	2668
16	45.2	18.54	Nonacosano	408	2904
17	46.2	2.46	Esqualeno	410	2914
18	46.8	14.51	Triacontano	422	3000
19	48.0	1.04	Dotriacontano	450	3202
20	48.2	0.97	9-octilhexacosano	478	3337
21	48.8	9.55	Hexatriacontano	506	3600
22	49.5	0.5	Tetracontano	562	3997
Total		96.77			

Tabela 1. Apresenta a composição volátil do óleo de Buriti obtido por análise de Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Tr = Tempo de retenção; MM = Massa molecular; IR = Índice de retenção.

O potencial do óleo do buriti já está amplamente conhecido, os componentes do óleo sobretudo os tocoferóis como exemplo a vitamina e cujo óleo é rico desse composto pode ser fundamental na função e regulação de várias células do sistema imunológico tais como macrófagos, células natural killer (NK), células T e células B, estudos recentes focaram nos efeitos da vitamina E em células imunes específicas. Macrófagos, células mononucleares têm papel importante na imunidade inata, principalmente pela produção de citocinas e regulação de vias de produção de radicais livres (Mosser & Edwards, 2008).

3.2 Viabilidade Celular

Os ensaios de viabilidade celular comprovaram que óleo e nanoemulsão não interferiram na vitalidade destas células. Entretanto quando os fagócitos foram incubados com a ameba na presença dos estímulos (óleo e nanoemulsão), observou-se que a viabilidade das células foi diminuída no grupo estimulado com óleo, mas tal resultado não deve ser correlacionado com a presença do óleo e sim pela interação do parasito com as células, visto que isoladamente o grupo com óleo não houve diminuição da viabilidade. Como observado na tabela abaixo, o índice de viabilidade foi acima de 90%. Ou seja os componentes do óleo não causaram nenhum tipo de dano às células, portanto não apresentou efeitos citotóxicos. Outros estudos comprovam resultados similares com

óleo de Buriti (Ferreira et al., 2011). Zanatta e colaboradores (2010) comprovaram baixa citotoxicidade do óleo de buriti para outros tipos celulares, os queratinócitos e fibroblastos. (Santos et al., 2020) essa pesquisa com óleo de sementes de buriti também descreveu baixa citotoxicidade, sobre *Artemia salina*. Os resultados obtidos corroboram com outros estudos envolvendo o óleo de buriti, essa baixa toxicidade está relacionada à quantidade de ácidos graxos presentes no óleo, um deles é o ácido oleico conhecido também como ômega 9. O ácido oleico tem efeito protetor sobre várias células do organismo, por exemplo as células cardíacas reduzindo os problemas vasculares (Pérez et al., 2018).

Fagócitos incubados com:	Viabilidade dos Fagócitos (%)
PBS (controle)	96,8 ± 3,89
Óleo	100,0 ± 0
Nanoemulsão	100,0 ± 0
E. histolytica	97,1 ± 0
***E. histolytica* + óleo**	**89,6 ± 6,5***
***E. histolytica* + nanoemulsão**	96,8 ± 0,8

Tabela 2. Índice de Viabilidade Celular (%) das células MN do sangue periférico e ameba incubados com o óleo de buriti e nanoemulsão.

Os resultados da tabela 2 estão expressos em média e desvio padrão. *Diferença entre o grupo de fagócitos incubados apenas com PBS e os tratados com óleo na presença da *Entamoeba histolytica.* (ANOVA, $p<0,05$).

3.3 Leucofagocitose

O protozoário *E. histolytica* foi utilizado para avaliar a interação do óleo e a ação que ele exerce sobre as células, algumas atividades biológicas das células fagocíticas, foram testadas. bem como foi possível verificar os mecanismos do próprio parasito, um deles tão importante é o processo de leucofagocitose, a própria ameba fagocita a célula, visto que ela realiza a emissão de pseudópodes e boa parte da sua captura de nutrientes se dá através desse mecanismo (Mortimer & Chadee, 2010; Boettner et. al., 2008).

A figura 2 mostra a leucofagocitose da *E. histolytica* em fagocitar células MN na presença dos estímulos óleo e nanoemulsão de buriti. Ocorreu o processo de leucofagocitose das amebas apenas no grupo sem nenhum tratamento (PBS), ou seja, a interação das amebas com as células fagocíticas sem nenhum estímulo garantiu a atividade fagocítica do parasito.

Entretanto, quando as células e parasitos foram tratados com ambos estímulos, óleo e nanoemulsão, houve importante recuo da leucofagocitose da *E. histolytica*. Na presença do óleo a atividade leucofagocitária da ameba foi inferior a 30%. Quando utilizada

a nanoemulsão observou-se que houve uma retração na leucofagocitose abaixo de 20%. A nanoemulsão diminuiu expressivamente a atividade de leucofagocitose da ameba, garantindo dessa forma a viabilidade dos fagócitos. Outros estudos como o de Moraes e colaboradores (2015) constataram que houve o aumento da morte de amebas durante a leucofagocitose na presença das citocinas IFN-γ e TGF-β, as quais modulam a atividade funcional das células MN e podem desempenhar um papel benéfico no controle das infecções amebianas.

O óleo de Buriti tem alta concentração de vitamina E. Essa composição favoreceu a permanência da viabilidade das células e a diminuição da atividade de fagocitose pela ameba conferindo dessa forma a proteção das células ao ataque do parasito (Dalen & Neuzil, 2003). A vitamina E tem sido associada a diversos estudos envolvendo a estimulação de macrófagos e ocasionado melhora na resposta condicionada à produção de prostaglandinas por estas células. Ela, em modelos experimentais, estimulou a atividade dessas células e aumentou a proliferação celular e a produção de citocinas (Surai, 2003). A vitamine E parece exercer importante função em modular respostas Th1 e Th2. Além disso, a polarização de células T CD4 tem influência na proteção de diversos patógenos intra e extracelulares.

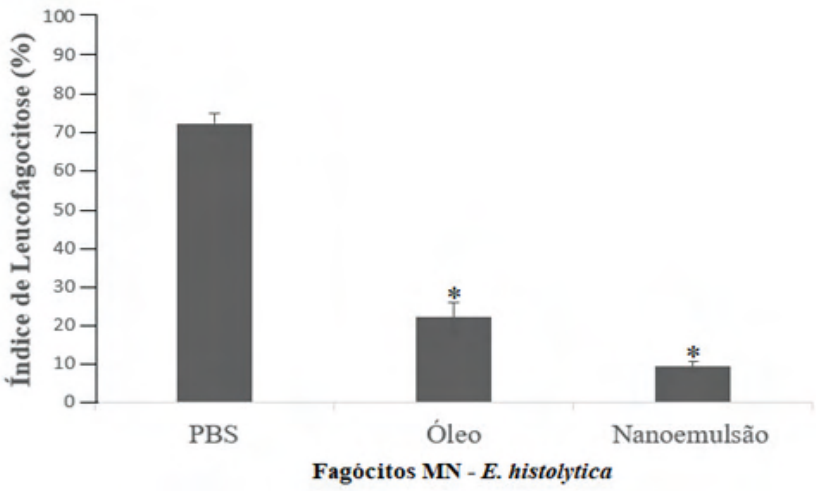


Figura 2. Leucofagocitose de amebas durante interações com fagócitos mononucleares na presença do óleo de buriti e nanoemulsão. Os resultados representam a média ± e o desvio padrão (DP). *Os resultados apresentam diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais comparados com o grupo controle. (ANOVA, $p<0.05$).

3.4 Atividade amebicida dos fagócitos MN

A atividade amebicida dos fagócitos MN está presente na figura 3.

Os maiores índices amebicidas foram encontrados em ambos grupos com os dois

estímulos; porém o melhor índice foi observado no grupo de fagócitos incubados com o parasito, na presença da nanoemulsão, em comparação ao grupo controle. Ou seja, a nanoemulsão garantiu a maior interação dos fagócitos com o parasito, estimulando potencial amebicida dessas células.

Esse resultado encontrado pode ser justificado pelo fato de o buriti ser rico em compostos fenólicos, principalmente ácido clorogênico e ácido caféico, que apresentam efeitos imunomoduladores e antimicrobianos (Koolen et al., 2013; Armutcu et al., 2015). Pesquisas realizadas com vários ácidos fenólicos, como o clorogênico e o caféico demonstraram uma elevada ação inibitória sobre a peroxidação de células como eritrócitos e monócitos, apresentando um elevado poder antioxidante (Scorsatto et al., 2017). O estudo de Behnia e colaboradores (2008) utilizando Thymus vulgaris (tomilho de jardim) apresentou atividade antiamébica e antiprotozoária, já Côrtes e colaboradores (2013) demonstraram em seu experimento que produtos naturais como *Strychnos pseudoquina* ST. HILL (Quina do Cerrado) tem potencial imunomodulador e, promissores alvos de utilização para diversas infecções até mesmo parasitárias. Moraes e colaboradores (2015) usando um modelo *in vitro* de amebíase, demonstraram que a estimulação das células MN com citocinas aumentou a atividade amebicida.

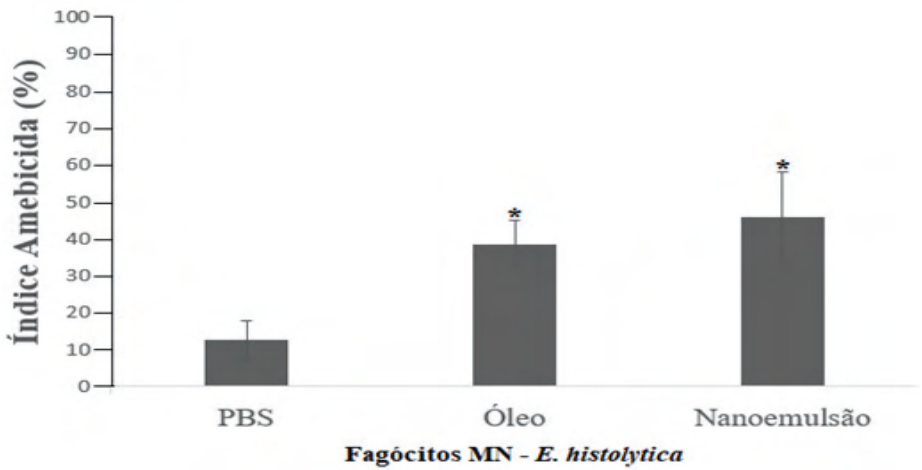


Figura 3. Atividade amebicida dos fagócitos MN na presença do óleo de buriti e nanoemulsão com a *E. histolytica*. Os dados representam a média ± e o desvio padrão (DP). *Os resultados apresentam diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais comparados com o grupo controle. (ANOVA, $p<0.05$).

3.5 Dosagem de ânion superóxido

A Tabela 3 mostra a liberação de ânion superóxido pelas células MN incubadas na presença de *E. histolytica* e estimuladas com óleo e nanoemulsão. Foi possível observar que grupos de células MN incubados com *E. histolytica* e óleo a produção de ânion foi

superior em comparação ao grupo controle. Entretanto, os maiores níveis de liberação de ânion foram observados em fagócitos tratados apenas com nanoemulsão. Sugerindo que a nanoemulsão possa estimular a produção de ânion pelas células.

Fagócitos MN incubados com:	Ânion superóxido (nmols)
PBS (controle)	6,19 ± 2,18
Óleo	7,58 ± 1,35
Nanoemulsão	7,72±1,57
E. histolytica	**6,01 ± 0,61***
E. histolytica + óleo	**6,57 ± 0,75***
E. histolytica + nanoemulsão	**8,16 ± 0,08***

Tabela 3. Dosagem de ânion superóxido (O_2^-) das células MN do sangue periférico incubadas com a *E. histolytica* e estimuladas com óleo de buriti e nanoemulsão.

Os resultados representam a média ± o desvio padrão (DP).

*Os resultados apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos experimentais comparados ao grupo controle. (ANOVA, $p<0.05$).

A Tabela 4 mostra a liberação de ânion superóxido pela *E. histolytica* estimulada com óleo e nanoemulsão. Foi possível observar que o parasito liberou níveis importantes de ânion na presença da nanoemulsão, quando comparado ao grupo controle, sem qualquer estímulo para o parasito (PBS).

E. histolytica na presença de:	Ânion superóxido (nmols)
PBS (controle)	4,74 ± 0,1
Óleo	**4,4 ± 0,27***
Nanoemulsão	**7,94 ± 1,03***

Tabela 4. Dosagem de ânion superóxido (O_2^-) de *E. histolytica* e estimuladas com óleo de buriti e nanoemulsão.

Os resultados representam a média ± o desvio padrão (DP).

*Os resultados apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos experimentais comparados ao grupo controle. (ANOVA, $p<0.05$).

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio nos pró-oxidantes e antioxidantes, o sistema imunológico é especialmente vulnerável a danos oxidativos, porque muitas células imunológicas, como neutrófilos, produzem espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) como parte dos mecanismos de defesa do corpo para destruir patógenos invasores. Os sistemas antioxidantes impedem a formação descontrolada de radicais livres e espécies reativas de oxigênio ou inibem suas reações com estruturas biológicas. O aumento da produção de ERO e RNS por neutrófilos ativados e a diminuição concomitante da capacidade defensiva antioxidante dão origem a um desequilíbrio oxidante / antioxidante que leva ao estresse oxidativo. Fisiologicamente, a formação de ERO / RNS desempenha uma função microbicida essencial. Embora a formação de espécies reativas seja desejável para a defesa do hospedeiro, a superprodução dessas espécies pode danificar as células do corpo, causar lesões nos tecidos e contribuir para o desenvolvimento de várias doenças graves. Assim, a modulação de sua produção é importante para o tratamento de doenças imunes e inflamatórias (Ribeiro et al., 2018).

O organismo é dotado de mecanismos para manter o equilíbrio entre compostos pró e antioxidantes. Quando há insuficiência do potencial antioxidante em contrabalançar, aumentos na formação de ERO, há danos oxidativos celulares. Dos mecanismos de defesa antioxidante para prevenir ou reduzir os efeitos do estresse oxidativo, participam enzimas endógenas (superóxido dismutase - SOD, catalase e glutationa peroxidase) e outras substâncias disponíveis na dieta, como os carotenóides, o alfa-tocoferol, o ácido ascórbico e compostos fenólicos, entre outras (Mejía et al., 2021). Os componentes encontrados no óleo de buriti como o Ácido palmítico, Ácido Oleico, Esqualeno apresentam propriedades benéficas à saúde, com ação antioxidante, reduzindo a ação dos radicais livres produzidos pelo estresse oxidativo das células (Ribeiro et al., 2021).

Essa importância da produção de ânion superóxido foi estabelecida nos resultados deste trabalho, nos grupos estimulados com óleo e nanoemulsão houve aumento da produção de ânion, o que leva a crer que o óleo mais uma vez teve papel de incitar a resposta dos fagócitos MN. Trabalhos anteriores relatam que células MN do sangue humano periférico incubados com uma mistura de plantas medicinais não apresentaram aumento na liberação de O^{2-} quando comparados com a liberação espontânea de células MN (Reinaque et al., 2012). Esses resultados diferem com os do presente trabalho, uma vez que a adição da nanoemulsão do Buriti ao grupo de amebas, aumentou a concentração de O^{2-}. Este fato pode ser justificado pelo alto teor de β-caroteno contido no óleo de buriti, que é depurador de radicais livres (Duarte-Almeida et al., 2006). Isso se deve por que o beta-caroteno é um precursor hidrofílico da vitamina A e se acumula em grandes concentrações nas membranas de certos tecidos. Sua atividade antioxidante está relacionada à remoção de O2- e de radicais livres formados durante a peroxidação lipídica (Da Silva & Gonçalves 2010).

Estudos retratam o β-caroteno como potente neutralizador de espécies reativas de

oxigênio e sequestrador de radicais livres, à baixas pressões parciais de oxigênio. Desse modo, reage com radicais livres, preferencialmente com radicais peroxila (ROO·) e com o oxigênio molecular singlet[1] (O^2), inibindo peroxidação lipídica no interior das membranas, mantendo assim a integridade e fluidez das mesmas (Símaro et., al; 2021), para mecanismos de proteção ao parasito. Os maiores níveis de ânion foram encontrados em grupos de células incubadas com nanoemulsão, o que corrobora com maior atividade microbicida do óleo para amebas e baixa toxicidade para as células MN. Estudos relatam que, durante infecções por protozoários ocorre participação ativa dos metabólitos de oxigênio (Brune et al. 2021). Ainda assim, mais estudos seriam necessários para entender melhor como ocorre esse processo de interação entre óleo, ameba e células.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M.L.S.; et al. **Infrared absorption spectra of Buriti (Mauritia flexuosa L.) oil**. Vibrational Spectroscopy, v. 33, p. 127-131, 2003.

ABD ALLA, M.D.; et al. **Efficacy of a Gal-lectin subunit vaccine against experimental Entamoeba histolytica infection and colitis in baboons (Papio sp.)**. Vaccine. v. 30, n. 20, p. 3068-3075, 2012.

ALLAN, R.; **Nanotechnology: the next revolution to redefine electronics.** (cover story: engineering feature). Electronic design. v. 51, n. 11, p. 55-62, 2003.

ALMEIDA, A.D., LEITE, T. S. A.; **Entamoeba histolytica como causa da amebíase.** Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 10, n. 1, p. 133 - 139, 2020.

ARAÚJO, A.C.A.; **Otimização da produção e caracterização físico-química de ésteres metílicos e etílicos produzidos a partir do óleo do buriti (Mauritia flexuosa).** p. 34-40, 2019.

ARMUTCU, F.; et al. **Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects.** Experimental and therapeutic medicine. v. 9, n. 5, p. 1582-1588, 2015.

BATISTA, J.S.; et al. **Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti Mauritia flexuosa L.** Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria. v. 42, n. 1, p.136-141, 2012.

BEHNIA, M.; et al. **Inhibitory effects of Iranian Thymus vulgaris extracts on in vitro growth of Entamoeba histolytica.** The Korean journal of parasitology. v. 46, n. 3, p. 153, 2008.

BELLINATI-PIRES, R. et al. **Evaluation of a fluorochrome assay for assessing the bactericidal activity of neutrophils in human phagocyte dysfunctions**. J Immunol Methods. v. 119, n. 2, p. 189-96, 1989.

BOETTNER, D.R. et al. **Entamoeba histolytica phagocytosis of human erythrocytes involves PATMK , a Member of the Transmembrane Kinase Family**. PLoS Pathogens. v. 4, p. 112-133, 2008.

BRAZ, A.S. et al. **Recommendations from the Brazilian Society of Rheumatology on the diagnosis and treatment of intestinal parasitic infections in patients with autoimmune rheumatic disorders**. Revista brasileira de reumatologia. v. 55, n. 4, p. 368-80, 2015.

BRUNE, M.W. et al.**Effects of cytokines IFN-γ and TGF-β on the functional activity of blood mononuclear cells against giardia lamblia**. Iran Journal of Parasitology. v. 16, n. 2, p.209-218, 2021.

CARRERO, J. C. et al. **Intestinal amoebiasis: 160 years of its first detection and still remains as a health problem in developing countries.** International Journal of Medical Microbiology, 2019.

CASTRO , A.A. et al. **Entamoeba histolytica como causa de diarreia crônica**. Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade. p. 1-8, 2019.

CERUELOS, A. et al. **Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update**. European Review for Medical and Pharmacological Sciences., p. 1-3, 2019.

CORDEIRO, T.G.P., MACEDO, H.W. **Amebíase**. Revista de Patologia Tropical. v. 36, p.119-128, 2007.

CÔRTES, M.A. et al. **Imunomodulação de fagócitos do sangue humano pelo extrato de Strychnos pseudoquina ST. HILL adsorvido em microesferas de olietilenogl**icol. Polímeros. v. 23, n. 3, p. 402-9, 2013.

DA SILVA, A.A., GONÇALVES, R.C.; **Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais: revisão bibliográfica.** Ciência Rural. São Paulo, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cr/a/Gw3txS7SVpcCCdLjf7BVPpG/?format=pdf&lang=pt. Acesso em:16 set. 2021.

DALEN, H., NEUZIL, J.; **α-Tocopheryl succinate sensitises a T lymphoma cell line to TRAIL-induced apoptosis by suppressing NF-κ B activation**. British journal of câncer. v. 88, p.153-158, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600683. Acesso em: 16 set. 2021.

DOLABELLA, S.S.; **Estudo comparativo da patogenicidade e virulência de Entamoeba díspar com amostras de Entamoeba histolytica**. Tese (Doutorado em Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007. Disponível em: http://hdl.handle.net/1843/SAGF-7C2HAX. Acesso em: 17 set. 2021.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; et al. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH.** Food Science and Technology. Campinas. v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006. Disponível em: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940078031. Acesso em: 17 set. 2021.

DULGHEROFF, A. C. B.; et al. **Amebíase Intestinal**: Diagnóstico Clínico e Laboratorial. Revista Científica do ITPAC. Araguaína, v. 8, n. 2, p. 1-4, 2015. Disponível em: https://assets.unitpac.com.br/arquivos/Revista/75/Artigo_1.pdf. Acesso em: 17 set. 2021.

FERREIRA, B.S.; et al. **Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods.** Molecules. Juiz de Fora, v. 16, n. 7, p. 5875-85, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules16075875. Acesso em: 17 set. 2021.

FRANÇA, E. L.; et al. **Human colostral phagocytes eliminate enterotoxigenic Escherichia coli opsonized by colostrum supernatant**. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. Pontal do Araguaia. v. 44, n. 1, p. 1-7, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jmii.2011.01.002. Acesso em: 17 set. 2021

FRANÇA-BOTELHO, A. C.; et al. **Relationship between oxidative stress production and virulence capacity of Entamoeba strains.** Research Journal of Parasitology. Belo Horizonte, v. 5, n.3, p. 139–147, 2010. Disponível em: https://scialert.net/abstract/?doi=jp.2011.1.17. Acesso em: 17 set. 2021.

GARCIA-ZEPEDA, E. A; et al. **Regulation of the inflammatory immune response by the cytokine / chemokine network in amoebiasis. Parasite Immunology.** México, v. 29, v. 12, p. 679-684, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00990.x. Acesso em:17 set. 2021

GHOSH, S., PADALIA, J., MOONAH, S.; **Tissue Destruction Caused by Entamoeba histolytica Parasite: Cell Death, Inflammation, Invasion, and the Gut Microbiome.** Current clinical microbiology reports. Charlottesville, v. 6, n. 1, p. 51-57, 2019 Disponível em: https://doi.org/10.1007/s40588-019-0113-6. Acesso em: 17 set. 2021.

HONDO, F. Y.; et al. **Characterization of the mucin phenotype can predict gastric cancer recurrence after endoscopic mucosal resection.** Arquivos de gastroenterologia. São Paulo, v .54, n.4, p. 308-314, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0004-2803.201700000-38. Acesso em: 17 set. 2021.

HUSTON, C.D.; **Parasite and host contributions to the pathogenesis of amebic colitis.** Trends in parasitology. v. 20, n. 1, p. 23-26. 2004, Disponível em:https://doi.org/10.1016/j.pt.2003.10.013. Acesso em: 17 set. 2021

KOOLEN, H. H. F.; et al. **Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (Mauritia flexuosa L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS.** Food Research International. v. 51, n. 2, p. 467–473. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.039.

LEJEUNE, M.. RYBICKA, J.M., CHADEE, K.; **Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward. Entamoeba histolytica.** Future Microbiology. Canadá, v. 4, n. 1, p. 105- 118, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.2217/17460913.4.1.105. Acesso em: 17 set. 2021.

MEJIA, J.Á.A., et al. **Nonclinical Toxicological Studies of Brazilian Red Propolis and Its Primary Botanical Source Dalbergia ecastaphyllum**. Chemical Research in Toxicology. v. 34, n4, p. 1024-1033, 2021.

MIRELMAN, D., ANBAR, M., BRACHA, R.; **Trophozoites of Entamoeba histolytica epigenetically silenced in several genes are virulence-attenuated**. Parasite. v. 15, p. 266-274, 2008.

MOONAH, S.N., JIANG, N.M., PETRI, W.A.; **Host immune response to intestinal amebiasis**. PLoS pathogens. v. 9, n. 8, 2013.

MORAES, L.C.A.; et al. Efeito de IFN-γ e TGF-β activity funcional of mononuclears blood cells in presence of Entamoeba histolytica. Parasite and Vectors.v. 8, p. 413. 2015.

MORTIMER, L., CHADEE, K.; The immunopathogenesis of Entamoeba histolytica. Experimental Parasitology. v. 126, p. 366-380, 2010.

MOSSER, D. M., EDWARDS, J. P.; **Exploring the full spectrum of macrophage activation**. Nature reviews immunology. v. 8, n. 12, p. 958-969, 2008.

NASRULLAH, A.; et al. **A Unique Case of Empyema Secondary to Amoebic Liver Abscess.** Cureus. v. 9, n. 6, 2016.

PÉREZ, D.; et al. **Effect of a Protein Supplement on the Gut Microbiota of Endurance Athletes**: A Randomized, Controlled, Double-Blind Pilot Study. Nutrients. v. 10, n. 10, p. 337, 2018.

PICK, E. MIZEL, D.; **Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader.** Journal of Immunological Methods, v. 46, n. 2, p. 211 – 226, 1981. ISSN 0022-1759. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/ 0022175981901381.

REINAQUE, A. P. B. et al. **Natural material adsorbed onto a polymer to enhance immune function. Drug Design, Development and Therapy**. Dove Medical Press, v. 6, p. 209 –216, 2012. ISSN 1177-8881. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/ PMC3431968/.

REIS, A. F.; SCHMIELE, M. **Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos.** Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 22, maio 2019. ISSN 1981-6723. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1981-6723.15017.

REIS, L. V. de C. **Avaliação físico-química e citotoxicidade de nanoemulsões e carreadores lipídicos nanoestruturados com óleo de buriti interesterificado.** p.129, 07 ago. 2019. Tese (Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos) — Unicamp. Disponível em: http:// repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/355211.

RIBEIRO, V. P. et al. **Phytochemical, Antiplasmodial, Cytotoxic and Antimicrobial Evaluation of a Southeast Brazilian Brown Propolis Produced by Apis mellifera Bees**. Chemistry & biodiversity, v. 18, p. e2100288 –, 2021.

RIBEIRO, V. P. et al. **Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review.** Pharmaceutical biology, v. 56, n. 4, p. 253 – 268, 2018.

SAMIE, A., ELBAKRI, A., ABUODEH, R.; ***Amoebiasis* in the Tropics: Epidemiology and Pathogenesis.** In: SAMIE, A.; ELBAKRI, A.; ABUODEH, R. (Ed.). Current Topics in Tropical Medicine. Londres, Reino Unido: IntechOpen. cap. 14, p. 201 – 226, 2012. Disponível em: https://www. intechopen.com/chapters/32498.

SANTOS, F. L. N.; SOARES, N. M. **Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela *Entamoeba histolytica***. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, scielo, v. 44, p. 249 – 261, 2008. ISSN 1676-2444. Disponível em: http: // www.scielo.br/scieloOrg/php/ articleXML.php?lang=en&pid=S1676-24442008000400004.

SANTOS, J. V. R. D.; SANTOS, R. V.; SANTOS, C. G. D. S. **Nanotecnologia: possibilidades de avanços tecnológicos mais poderosos.** In: ANAIS, Salvador. Congresso Internacional de Educação e Geotecnologias. Salvador. p. 350 – 351, 2019. Disponível em: https://revistas.uneb.br/index.php/ cintergeo/article/view/6896. Acesso em: 16 de setembro de 2021.

SANTOS, K. L. B. et al. **Desenvolvimento e avaliação de condicionador leave in à base do óleo das sementes de mauritia flexuosa (Buriti).** Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research, v. 29, n. 2, p. 12 – 19, 2019. ISSN 2317-4404. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20200105_101206.pdf.

SCORSATTO, M., et al. **Avaliação de Compostos Bioativos, Composição Físico-Química e Atividade Antioxidante In Vitro da Farinha de Berinjela**. International Journal of Cardiovascular Sciences, v. 30, n.3, p. 235-242, 2017.

SHIRLEY, D.A.; et al. **A review of the global burden, new diagnostics, and current therapeutics for amebiasis.** In Open forum infectious diseases. v. 5, n. 7, p. 161, 2018.

SILVA, E.F., GOMES, M.A.; **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu Editora, ed. 11, p. 127- 138, 2005.

SILVA, K.M.G.; **Atividade Imunomoduladora De Ifn- E Il-17 Sobre A Função Eritrofagocítica De Entamoeba Histolytica**. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso, [S. l.], p. 12, 2016.

SÍMARO, G.V.; et al. **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of Copaifera pubiflora Benth oleoresin and its major metabolite ent-hardwickiic acid**. Journal of Ethnopharmacology. v. 271, 2021.

SURAI, P.F.; **Selenium-vitamin E interactions: does 1+1 equal more than 2?.** Nottingham University Press. p. 2-7, 2003.

TANYUKSEL, M., PETRI, W.A JR. **Laboratory diagnosis of amebiasis**. Clin Microbiol Ver. v. 16, p. 713-729. 2003.

TSUTSUMI, V., SHIBAYAMA, M.; **Experimental amebiasis: a selected review of some in vivo models.** Archives of medical research. v. 37, n. 2, p. 210-220. 2006.

VAUCHER, R.A.; et al. **Antimicrobial activity of nanostructured Amazonian oils against Paenibacillus species and their toxicity on larvae and adult worker bees**. Journal of Asia- Pacific Entomology. v. 18, p. 205–210. 2015.

WANG, H., KANTHAN, R.; **Multiple colonic and ileal perforations due to unsuspected intestinal amoebiasis—Case report and review**. Pathology-Research and Practice. v. 216, n. 1, 2020.

ZANATTA, C.F.; et al. **Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (Mauritia flexuosa) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines**. Food and Chemical Toxicology. v. 1, n. 48, p. 70-75, 2010.

CAPÍTULO 18

DETERMINAÇÃO DE HERBICIDAS EM ÁGUA DE ABASTECIMENTO DE ESCOLAS DA REGIÃO RURAL DO MUNICÍPIO DE SANTA MARIA/RS

Data de aceite: 01/11/2021
Data de Submissão: 14/10/2021

Rosselei Caiel da Silva
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Química
Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes (CEPARC)
Santa Maria/RS
http://lattes.cnpq.br/2187197138622302

Jonatan Vinicius Dias
Wageningen Food Safety Research (WFRS)
Wageningen/Holanda
http://lattes.cnpq.br/3658970367781237

Jefferson Soares de Jesus
Universidade Federal do Pampa
Uruguaiana/RS
http://lattes.cnpq.br/5947188699512688

Ionara Regina Pizzutti
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Departamento de Química
Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes (CEPARC)
Santa Maria/RS
http://lattes.cnpq.br/3883506164936996

Rochele Cassanta Rossi
Universidade do Vale do Rio dos Sinos - Escola de Saúde
São Leopoldo/RS
http://lattes.cnpq.br/0627260486404735

RESUMO: A contaminação das fontes de água potável tem aumentado com as intensivas práticas agrícolas, isto se deve à grande quantidade de agrotóxicos utilizados pelos agricultores. Para controlar a qualidade da água potável, diferentes métodos analíticos estão sendo estudados. Este trabalho teve como objetivo, desenvolver e validar um método para determinar herbicidas (2,4-D, bentazona, propanil e quincloraque) utilizando Cromatografia a Líquido com Detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD), em águas de poços artesianos e fontes. Para extração dos analitos, utilizou-se extração em fase sólida (SPE), já que esta técnica apresenta algumas vantagens como baixo consumo de solventes, pouco trabalhoso e fácil automação. Para a validação do método desenvolvido, os parâmetros avaliados foram linearidade, efeito matriz, limite de deteção (LOD) e de quantificação (LOQ), exatidão e precisão. A curva analítica apresentou coeficiente de correlação maior que 0,99. O efeito matriz foi positivo para todos os compostos, exceto o quincloraque. LOD na faixa de 0,8 a 0,16 $\mu g\ kg^{-1}$, e LOQ na faixa de 0,24 a 1,0 $\mu g\ kg^{-1}$. As medias das recuperações dos ensaios de fortificação foram na faixa de 76 a 113% e precisão apresentou valor de RSD inferior a 12%. Tendo em vista os resultados obtidos para cada parâmetro avaliado, pode-se concluir que o método desenvolvido para determinar herbicidas em água mostrou-se eficiente, sensível, rápido e simples, podendo ser aplicado para avaliar a qualidade das águas da região. Nenhuma das amostras de água que abastece as escolas estava contaminada com os herbicidas estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Água. Agrotóxicos.

Validação de método. Monitoramento.

DETERMINATION OF HERBICIDES IN DRINKING WATER FROM SCHOOLS IN THE RURAL REGION OF SANTA MARIA/RS

ABSTRACT: Contamination of drinking water sources has increased with intensive agricultural practices, this is due to the large amount of pesticides used by farmers. To control the quality of drinking water, different analytical methods are being studied. This work aimed to develop and validate a method to determine herbicides (2,4-D, bentazone, propanyl and quinchlorac) using High Performance Liquid Chromatography Diode Array Detection (HPLC-DAD) in water from artesian wells and springs . For extracting the analytes, solid phase extraction (SPE) is used, as this technique has some advantages such as low solvent consumption, little labor and easy automation. For the validation of the developed method, the parameters obtained were linearity, matrix effect, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), accuracy and precision. The analytical curve showing a correlation coefficient greater than 0.99. The matrix effect was positive for all compounds except quinchlorac. LOD in the range of 0.8 to 0.16 μg kg^{-1}, and LOQ in the range of 0.24 to 1.0 μg kg^{-1}. The averages of the recoveries of the fortification tests were in the range of 76 to 113% and the precision presented a RSD value inferior to 12%. In view of the results obtained for each parameter evaluated, it can be realized that the method developed to determine herbicides in water is efficient, sensitive, fast and simple, and can be evaluated to assess the quality of water in the region. None of the drinking water sample of the schools were contaminated with the studied herbicides.
KEYWORDS: Water. Pesticides. Method validation. Monitoring.

1 I INTRODUÇÃO

O aumento da atividade agrícola desenvolvida em áreas de mananciais tem causado preocupação quanto ao potencial de contaminação decorrente da aplicação de agrotóxicos. Sabe-se que a agricultura é uma das possíveis fontes de contaminação ambiental, geralmente apontada como importante contribuinte de poluentes. (BRITO et al., 2001). Embora não seja o único agente responsável pela perda da qualidade da água, a agricultura, direta ou indiretamente, contribui para a degradação dos mananciais.

Ao longo das últimas décadas, a expansão das áreas agrícolas e a maior intensidade de uso de agrotóxicos nessas áreas fizeram com que houvesse um aumento na preocupação com seus resíduos no ambiente. A presença de compostos químicos em concentrações acima dos especificados nas normas padrão podem provocar risco à saúde da população. Esse fato despertou o interesse em verificar a ocorrência de contaminação das águas, pois os agrotóxicos em contato com o sistema aquático podem associar-se aos materiais em suspensão e, eventualmente, migrar para os sedimentos, como também podem ser liberados na água ou serem absorvidos, alterados ou degradados por microrganismos. (DORES & DE-LAMONICA-FREIRE, 2001).

Portanto, faz-se necessário um eficiente e preciso monitoramento dos resíduos de

agrotóxicos em fontes de água e em águas para consumo humano. A principal técnica analítica utilizada na determinação de agrotóxicos é a cromatografia, acoplada a sistemas de detecção.

Um dos passos mais críticos para a análise em diversas matrizes é o preparo e a extração da amostra. Tradicionalmente, a extração líquido-líquido (LLE) tem sido utilizada para esta finalidade. No entanto, é uma etapa demorada além de utilizar grande volume de solventes orgânicos. Em consequência, diferentes técnicas de extração têm sido desenvolvidas a fim de ultrapassar estes problemas. (RODRIGUES et al., 2007).

Atualmente, a extração em fase sólida (SPE) é uma técnica bem estabelecida e tem sido utilizada para a pré-concentração e purificação de diversas classes de compostos em uma variedade de matrizes. Os analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos, juntamente com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo adsorvente. Um solvente orgânico seletivo é geralmente utilizado para remover os interferentes e então, outro solvente é usado para lavar os analitos de interesse. (BARRIONUEVO & LANÇAS, 2001). SPE oferece a possibilidade de reduzir o volume de amostra, sem perda de sensibilidade, minimizando a utilização de solventes orgânicos. (FRITZ & MACKA, 2000).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e validação de um método analítico para determinação de 4 herbicidas (2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), bentazona, propanil e quincloraque) empregando cromatografia líquida de alto desempenho com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). O método foi aplicado para análise de amostras de água provenientes de poços artesianos e fontes que abastecem 4 escolas públicas localizadas na área rural de Santa Maria/RS, nas quais foi desenvolvido um projeto de conscientização ambiental.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes e soluções analíticas

Utilizaram-se padrões analíticos de 2,4-D 99% (Milênia), bentazona 97% (Dr. Ehrenstofer), propanil 99,3% (Herbitecnica) e quincloraque 99,2% (BASF). Soluções estoque (1000 mg L^{-1}) e soluções analíticas de trabalho foram preparadas em metanol (Mallinkrodt, EUA), e armazenadas em frascos âmbar a temperatura de -18 ºC. Foram usados ácido fosfórico grau analítico 85% (Merck, Alemanha) e água ultrapura (Millipore, Bedford, MA, USA). Cartuchos de SPE (C18, 500 mg, 40 µm, 4 mL) foram obtidos da Varian.

2.2 Desenvolvimento e validação do método

2.2.1 Instrumentação e condições cromatográficas

Para os testes da composição da fase móvel utilizaram-se as composições metanol:água 50:50, 65:35 e 80:20 (v/v), nas vazões de 0,5; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 mL min^{-1}. Todas as composições foram acidificadas com solução aquosa de ácido fosfórico 1:1 (v/v), ajustadas a pH 3,5. Determinou-se a vazão apropriada, a partir da melhor separação, no menor tempo total da corrida cromatográfica.

Para a determinação do comprimento de onda (λ) de máxima absorção individual de cada analito, foi efetuada uma varredura na faixa de 200 a 400 nm. Para isto, foi preparada uma mistura com os 4 analitos na concentração de 1,0 mg L^{-1} e posteriormente injetou-se 20 μL da mistura no sistema HPLC-DAD. Na Tabela 1, encontram-se as condições cromatográficas estabelecidas e otimizadas neste estudo.

Coluna analítica	Bondesil C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μm)
Fase móvel	Metanol:água 65:35 (v/v), pH 3,5
Vazão da fase móvel	1,0 mL min^{-1}
Volume de injeção	20 μL
Tempo de corrida	20 minutos

Tabela 1. Condições cromatográficas otimizadas.

2.2.2 Estabelecimento do procedimento de extração

Vários testes foram realizados para a otimização do procedimento de extração. Foram testados parâmetros que afetam o processo de extração como quantidade de água, quantidade ideal de adsorvente, força do vácuo e vazão. O adsorvente escolhido para SPE foi C18 (500 mg) com tamanho médio de partículas de 40 μm, em tubo de 4 mL de capacidade.

O cartucho de SPE foi primeiramente condicionado passando-se 6 mL do solvente de eluição metanol e 6 mL de água ultra pura (para retirar o excesso de metanol). Uma solução de 250 mL de água a pH 3,5, contendo os analitos de interesse, previamente filtrada em membrana de nylon, foi percolada através do material adsorvente do cartucho de SPE à uma vazão de 5 mL min^{-1}, sob vácuo.

Após a etapa de pré-concentração foram adicionados 3 mL de água ultra pura para retirar substâncias interferentes solúveis em água, seguido de vácuo por 2 minutos. Esta etapa melhora a extração e a reprodutibilidade, tornando a extração mais homogênea além de diminuir as interferências no sistema HPLC-DAD. Em seguida, os cartuchos foram secos sob vácuo por 10 minutos. Os analitos retidos no adsorvente foram eluídos com 2 alíquotas de 500 mL de metanol. Recolheu-se o eluato em um tubo de ensaio o qual foi

evaporado até secura, empregando nitrogênio (N_2). Para a análise via HPLC-DAD foi feita a redissolução em 1 mL da fase móvel.

2.2.3 Validação do método

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância analisada, dentro de uma determinada faixa de aplicação. A linearidade do método foi obtida pela equação de regressão linear (y = ax + b). Um coeficiente de determinação (r^2) maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (FEINBERG, 2007; EU, 2019).

Para o estudo de linearidade e efeito matriz preparou-se uma solução mistura dos padrões dos agrotóxicos em estudo tanto em fase móvel (metanol/$H_2$0 65:35) como em matriz (no caso, água de poço isenta de agrotóxicos) nas concentrações de 0,06; 0,08; 0,1; 0,125; 0,2; 0,25; 0,4; 0,6; 1; 2; 3 e 4 mg L^{-1}, a partir da solução estoque de concentração 10 mg L^{-1}.

Através das curvas analíticas obtidas com as soluções preparadas tanto em fase móvel como em matriz, foi possível calcular o efeito matriz, sendo também este um importante parâmetro de desempenho que deve ser avaliado cuidadosamente durante o processo de validação. O efeito matriz pode causar aumento ou diminuição da resposta do detector (MORELLI et al, 2008). Quando a média das respostas das soluções preparadas na matriz for ≥ 20% das médias das respostas das soluções preparadas em solvente (fase móvel), o efeito matriz pode ser considerado significativo nos resultados analíticos quantitativos da amostra. Desta forma, as soluções analíticas utilizadas para a construção das curvas analíticas devem ser necessariamente preparadas em matriz.

O LOD representa a menor concentração da substância em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental; é definido como a concentração do analito, que resulta em um sinal três vezes maior que o ruído da linha base, nas proximidades do sinal do analito (LOD = 3S/R). O LOQ é a menor concentração da substância em análise que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais; é a concentração do analito que resulta um sinal dez vezes maior que o sinal do ruído da linha base (LOQ = 10 S/R).

Para os estudos de recuperação, que avaliam a exatidão do método, fortificaram-se as amostras “branco” de água de poço com a solução analítica mistura (1,0 mg L^{-1}) contendo todos os compostos em estudo, em três diferentes níveis de concentração: 0,5; 1,0 e 5,0 μg L^{-1}.

A precisão, em termos de repetitividade da resposta do instrumento, empregada no método cromatográfico, foi avaliada efetuando-se 6 injeções de cada solução (n=6), em 7 concentrações. A repetitividade, em termos do método analítico (RSD_{rm}), foi avaliada

efetuando-se o procedimento de extração e análise das amostras “branco” fortificadas, em três níveis de concentração, seis extrações (n= 6) e três injeções para cada extração (n= 3).

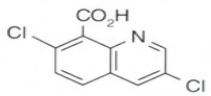
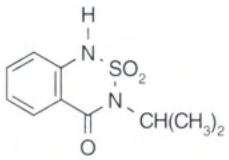
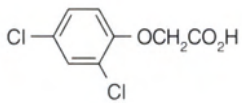
2.3 Aplicabilidade do método

O método foi aplicado para análise de água de fontes (vertentes) e poços artesianos de 4 escolas da área rural de Santa Maria/RS, as quais eram participantes de projeto de extensão cujo objetivo foi trabalhar a problemática do uso e descarte incorreto de agrotóxicos e alertar dos malefícios à saúde e ao meio ambiente.

A escolha das escolas foi devido a localização destas e a proximidade a lavouras de cultivo de arroz, em região próxima das margens de cursos de água, o que potencializa o risco de contaminação, em razão das descargas naturais ou do manejo das lavoura.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi determinado o melhor comprimento de onda (λ) de cada analito cujos valores encontram-se na tabela 2, junto a fórmula estrutural e o tempo de retenção de cada um dos agrotóxicos estudados.

Agrotóxico	Fórmula estrutural	Tempo de retenção (min)	λ de máxima absorção (nm)
Quincloraque		5,9	255
Bentazona		7,3	220
2,4-D		9,3	231

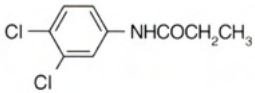
Propanil		15,5	250

Tabela 2. Fórmula estrutural, tempo de retenção e comprimento de onda de máxima absorção dos agrotóxicos estudados.

As condições cromatográficas otimizadas neste estudo permitiram a separação e quantificação com sensibilidade apropriada. Na Figura 1, observa-se o cromatograma obtido para solução analítica contendo os quatro agrotóxicos em estudo, na concentração 1,0 mg L^{-1}.

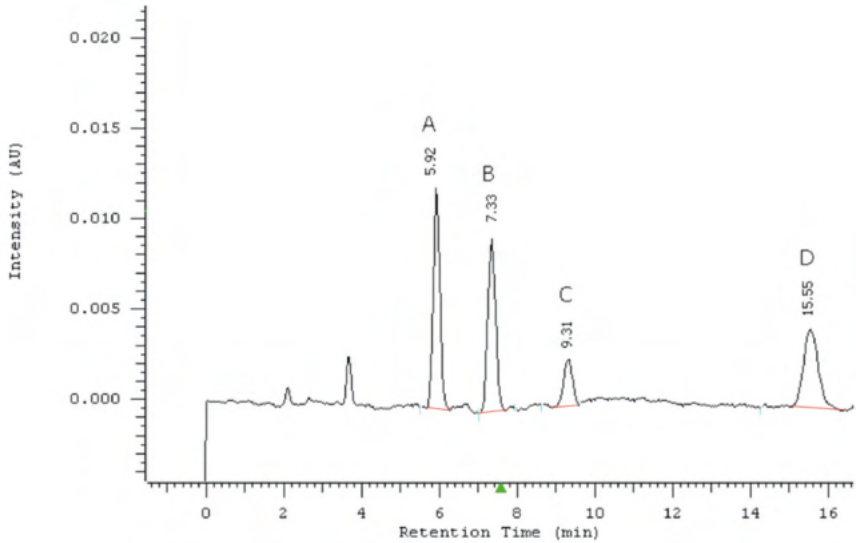


Figura 1. Cromatograma obtido por HPLC-DAD, nas condições cromatográficas otimizadas, a partir da injeção da solução de concentração 1,0 mg L^{-1}, contendo os agrotóxicos quincloraque (A), bentazona (B), 2,4-D (C) e propanil (D).

As curvas analíticas foram obtidas com o auxílio do programa Excel 7.0 (Microsoft), o qual forneceu o coeficiente de correlação (r^2), a inclinação (a) o intercepto (b) e as respectivas estimativas de desvio-padrão, sendo os resultados apresentados a seguir na tabela 3.

Agrotóxico	Faixa Linear (mg L^{-1})	Fase móvel		Água de poço	
		Equação da reta y = ax+b	r^2	Equação da reta y = ax+b	r^2
Quincloraque	0,06 – 1,0	y = 80005x + 1754,1	0,9955	y = 59226x - 274,4	0,9983
Bentazona	0,06 – 1,0	y = 66454x + 279,2	0,9949	y = 74602x + 64,119	0,9993
2,4 D	0,25 – 4,0	y = 23656x - 778,58	0,9983	y = 29026x + 468,53	0,9967
Propanil	0,2 – 2,0	y = 59160x - 762,88	0,9969	y = 63101x + 352,48	0,9963

Tabela 3. Faixa linear do método obtida com as soluções analíticas preparadas em fase móvel e em matriz (água de poço).

Analisando-se as curvas obtidas pode-se concluir que o modelo linear é bastante adequado já que os coeficientes de determinação (r^2) foram maiores que 0,99. Todos os agrotóxicos apresentaram efeito matriz positivo, com exceção do quincloraque que apresentou efeito matriz negativo. Assim, as soluções das curvas analíticas utilizadas para a validação foram preparadas em matriz.

Na tabela 4, encontram-se os valores do LOD e LOQ do instrumento e do método, para os agrotóxicos avaliados.

Agrotóxico	LOD_i (mg L^{-1})	LOQ_i (mg L^{-1})	LOD_m (mg L^{-1})	LOQ_m (mg L^{-1})
Quincloraque	0,04	0,06	0,16	0,24
Bentazona	0,05	0,06	0,2	0,24
Propanil	0,1	0,12	0,4	0,48
2,4 D	0,2	0,25	0,8	1,0

Tabela 4. LOD e LOQ do instrumento (i) e do método (m).

Os valores de LOD e LOQ teóricos do instrumento foram satisfatórios. Os valores de LOD_i ficaram entre 0,04 e 0,2 mg L^{-1}. Já os valores de LOQ_i entre 0,06 e 0,25 mg L^{-1}. Através da etapa de pré-concentração adotada, a amostra de água pode ser concentrada até 250 vezes, os valores de LOD e de LOQ do método ficaram entre 0,16 e 0,8 μg L^{-1}, e 0,24 e 1,0 μg L^{-1}, respectivamente, o que se considera limites satisfatórios para determinação de agrotóxicos em água.

A exatidão do método foi avaliada através da fortificação de 6 amostras “branco” em 3 níveis de concentração (0,5; 1,0 e 5,0 $\mu g\ L^{-1}$); cada extrato foi injetado 3 vezes no sistema HPLC-DAD.

Neste estudo a precisão foi avaliada em termos de repetitividade, que representa a concordância entre resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob mesmas condições de medição, mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento sob as mesmas condições, mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo.

A tabela 5 apresenta os resultados da exatidão do método em termos de recuperação percentual, obtidos através dos ensaios de recuperação, assim como os resultados de precisão, expressos como desvio padrão relativo.

Agrotóxico	Nível de fortificação ($\mu g\ L^{-1}$)	Média da recuperação* (%)	RSD (%)
Quincloraque	0,5	113	5
	1,0	88	12
	5,0	98	12
Bentazona	0,5	112	8
	1,0	85	6
	5,0	91	7
2,4 D	0,5	76	11
	1,0	80	8
	5,0	77	7
Propanil	0,5	98	6
	1,0	88	6
	5,0	88	9

Tabela 5. Resultados dos ensaios de fortificação e recuperação, e desvio padrão relative (RSD%).

* 6 extrações, 3 injeções.

Para a validação de métodos cromatográficos, as recuperações devem estar entre

70 e 120%. (EU, 2019). Todos os valores obtidos apresentaram-se dentro desse intervalo. Os valores de RSD obtidos são satisfatórios, uma vez que são aceitos valores de até 20% para a determinação de agrotóxicos nesta faixa de concentração.

Após a validação do método foi possível empregá-lo para análise das amostras, sendo que nenhum dos quatro analitos foi detectado nas amostras analisadas.

4 I CONCLUSÃO

O método para análise de quatro herbicidas em água potável desenvolvido e validado no presente trabalho demonstrou ser simples, seletivo, exato e preciso. Dentre as vantagens, o método de extração mostrou-se eficiente além de utilizar menos solvente orgânico gerando, assim, menor quantidade de resíduos.

Nenhum dos agrotóxicos foi detectado nas amostras dentro do período estudado. No entanto, ressalta-se a necessidade de que se tenha uma avaliação sistemática quanto à presença destes compostos nas fontes de água potável, principalmente em regiões como a estudada, com intensa atividade agrícola. Vale destacar também a importância de projetos de conscientização junto à comunidade escolar.

REFERÊNCIAS

BARRIONUEVO, W. R., LANCAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. **Química. Nova**. vol.24, n.2, pp. 172-175, 2001.

BRITO, N. M. et al. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 11, p. 93-104, 2001.

DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: Águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – Análise preliminar. **Química Nova**, v.24, n. 1, p. 27-36, 2001.

EU - European Commission. Document nº SANTE/12682/2019. **Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.** Disponível em: <https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf>. Acesso em: 01 outubro 2021.

FEINBERG, M. Validation of analytical methods based on accuracy profiles. **Journal of Chromatography A**, v.1158, p. 174–183, 2007.

FRITZ, J. S.; MACKA, M. Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. **Journal of Chromatography A**, 902 p. 137–166, 2000.

MORELLI, M., H., W., et al., Efeito da resposta cromatográfica acentuada ou induzida pela matriz: estudo de casos em tomates, **Revista Analytica**, Abril/Maio, nº 34, 2008.

RODRIGUES, A. M. et al. Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, liquid chromatography and electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1150, p. 267–278, 2007.

CAPÍTULO 19

SUCO DE LIMÃO: PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E PROCESSAMENTO

Data de aceite: 01/11/2021
Data de Submissão: 19/10/2021

Lucia Maria Jaeger de Carvalho
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Rio d eJaneiro, RJ
http://lattes.cnpq.br/3226335064324012

Antonio Gomes Soares
Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ
http://lattes.cnpq.br/1977907459111090

Marcos José de Oliveira Fonseca
Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ
http://lattes.cnpq.br/4190354481550753

José Luiz Viana de Carvalho
Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ
http://lattes.cnpq.br/2025055173757476

RESUMO: O artigo aborda o cultivo do limão ou lima ácida (*Citrus latifolia*), produção, legislação, composição e valor nutricional, microbiologia e processamento do suco de limão e outros aspectos.
PALAVRAS-CHAVE: *Citrus latifolia*, lima ácida, suco de limão, processamento.

LEMON JUICE: PRODUCTION, COMPOSIÇÃO, PROCESSAMENTO

ABSTRACT: The paper addresses the cultivation of lemon or acid lime (*Citrus latifolia*), production, legislation, composition and nutritional value, microbiology and processing of lemon juice and other aspects.
KEYWORDS: *Citrus latifolia*, acid lime, lemon juice, processing.

1 I INTRODUÇÃO

O limoeiro é uma árvore da família *Rutaceae*, com ramos contendo espinhos, folhas alternas, flores solitárias, frutos ovóides ou oblongos, atingindo altura variável de 4 a 6 metros.

Atualmente, essa planta cítrica é cultivada em todo o mundo, em regiões de clima ameno no inverno. Crescem bem em solos com ampla variação textural, porém os de textura média (em torno de 20% de argila) são os mais adequados. Podem, também, ser cultivadas quando são aplicadas técnicas avançadas de irrigação em regiões desérticas, de solos arenosos. O desenvolvimento de técnicas de proteção ao gelo e ao frio propiciou a disseminação da cultura em regiões impróprias ao seu cultivo.

A matéria-prima para suco de limão no Brasil é, na verdade, a lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia*, Tanaka) que, na classificação botânica, pertence ao gênero *Citrus e* subgênero *Eucitrus*. No Brasil, os dados de produção de suco de lima ácida Tahiti são incipientes, uma vez que este suco é computado dentro do item outros sucos

cítricos. Não havendo, portanto, dados confiáveis disponíveis que possam ser divulgados.

A variedade Tahiti é muito cultivada no Brasil, por cultivo convencional e, ultimamente, por cultivo orgânico e orgânico biodinâmico.

Sendo frutos não climatéricos, os cítricos necessitam de longo período para completar seu processo de amadurecimento, possuindo baixa taxa respiratória que varia de acordo com a espécie.

Conhecido como limão no Brasil, o Tahiti tem sua maior produção no Estado de São Paulo (70%), porém outros estados se destacam na produção nacional como Bahia, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais e Sergipe. A safra concentra-se entre dezembro e abril no estado de São Paulo e, entre janeiro e junho no estado do Rio de Janeiro.

A produção nacional de limão cresce lentamente enquan toas exportações brasileiras vêm aumentando progressivamente (Tabela 1).

Ano	Produção (t)	Exportação (t)	Área (ha)
2001	964821	-	50.783
2002	984.551	21.800	50.571
2003	981.339	34.000	51.262
2004	985.623	37.300	49.372
2005	1.031.531	44.300	50.783

Tabela 1. Produção, área e exportação de limão*.

Fonte: Anuário Brasileiro de Fruticultura (2007). * inclui a produção de lima ácida.

O México é o maior produtor mundial de limão, ficando o Brasil na quinta colocação, porém quanto à produção mundial de lima ácida, o México e o Brasil são seus maiores produtores.

O mercado nacional e internacional de suco de limão trabalha principalmente com suco integral e concentrado. O preço da tonelada do suco de limão concentrado congelado, para exportação, situa-se próximo a U$ 850,00 enquanto, quando comercializado no mercado interno, seu valor é de, aproximadamente, US$ 6,90 em latas de 1 litro. O preço no mercado varejista para os sucos de limão em pó varia de US$ 0,27 a US$ 0,42 enquanto para os sucos de limão em pó *light*, aumenta para US$ 0,33 em embalagens de 11g de produto. O preço do suco pronto para beber ou néctar de limão ao consumidor varia de US$ 1,89 a US$ 2,00 para embalagens de 1 litro. No Brasil, o suco de limão produzido na forma concentrada e congelada, tem como destino o mercado de exportação.

O limoeiro é sensível ao frio, porém pode ser cultivado em regiões de clima temperado, uma vez que sua acidez e quantidade de suco são atingidas na época de colheita, que é realizada no verão. São conhecidas mais de 50 variedades de limões no mundo. As que mais se destacam são: Eureca, Lisboa, Vilafranca, Genova, Femminello, Interdonato, Monachello, Berna, Mesero e Siciliano.

O suco de lima ácida é considerado um ótimo tônico e bactericida, mas não deve ser ingerido puro, pois pode prejudicar o estômago devido à sua acidez. Com o suco de lima ácida preparam-se refrigerantes, sorvetes, molhos e aperitivos, bem como remédios, xaropes e produtos de limpeza. Quando comparado com os sucos de outros cultivares, o suco de lima ácida possui menor acidez, maior rendimento em suco e sabor característico.

1.1 Histórico

A introdução dos frutos cítricos na Europa remonta ao século III a.C. pela conquista de Alexandre, O Grande, do Oeste Asiático. Nos países mediterrâneos, foram introduzidos quando os romanos navegaram do Mar Vermelho até a Índia. A partir da Europa, os frutos cítricos foram disseminados para a América, África do Sul e Austrália.

Acredita-se que a origem da lima ácida Tahiti seja a Índia, e a denominação da variedade se deve ao fato de sua introdução na Califórnia ter ocorrido através do Taiti, entre 1850 e 1880.

1.2 Legislação

A legislação brasileira (BRASIL, 1997) define o suco de limão ou de lima ácida como a bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível do limão (*Citrus limon*, L., Burn. F.) ou da lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka) através de processo tecnológico adequado. Deve possuir coloração translúcida branca a amarelado, sabor e aroma próprios.

O Código Sanitário Paulista (SÃO PAULO, 2003) define os sucos de frutas cítricas como o líquido obtido por extração de frutas cítricas através de processo tecnológico adequado e o produto obtido será designado suco seguido do nome da fruta que lhe deu origem.

A legislação brasileira (BRASIL, 1997, 2000) classifica os produtos e bebidas derivadas de frutas cítricas da seguinte forma:

 # Suco integral: suco sem adição de açúcar e na sua concentração natural, sendo vedado o uso de tal designação para suco reconstituído;

 # Suco concentrado: parcialmente desidratado, podendo ser adicionado açúcar, na quantidade máxima fixada para cada tipo de suco, através de ato administrativo, observado o percentual máximo de 10%, em peso, calculado em base de sólidos solúveis naturais do suco, e deve ser mencionado no rótulo;

 # Suco desidratado: no estado sólido, obtido da desidratação do suco integral, devendo conter a expressão suco desidratado;

 # Suco reconstituído: obtido da reconstituição do suco concentrado ou desidratado, até a concentração original do suco integral ou ao teor de sólidos solúveis mínimo, estabelecido nos respectivos padrões de identidade e qualidade (PIQ) para cada tipo de suco integral, sendo obrigatório constar em sua rotulagem a origem do suco utilizado para sua elaboração, se concentrado ou desidratado, sendo opcional o uso da expressão reconstituído;

 # Néctar de limão: produto obtido pela mistura de 50%, no mínimo, de suco de limão maduro em água potável, sacarose, ácidos orgânicos entre outras substâncias permitidas pela legislação brasileira.

 # Bebida ou refresco: bebida não gaseificada, não fermentada, obtida pela diluição em água potável de suco de limão, adicionada de açúcar, devendo conter, no mínimo, 5% em volume de suco da fruta.

 # Refrigerante: bebida gaseificada, obtida pela dissolução, em água potável, de suco de limão, adicionada de açúcares. O refrigerante de limão deverá conter, obrigatoriamente, no mínimo, 2,5% em volume de suco da fruta.

Na Tabela 2, podem ser observadas as características físicas e químicas do suco de limão.

Limites	mínimo	máximo
Densidade relativa à 20ºC	1,027	-
Acidez total titulável, em ácido cítrico (g/100g)	5,00	-
Acido ascórbico (mg/100g)	20,0	-
Óleo essencial de limão % (v/v)	-	0,025

Tabela 2. Padrões de identidade e qualidade para suco de limão ou lima ácida.

Fonte: Instrução Normativa nº 12, de 10 de setembro de 1999 (BRASIL, 1999).

Fonte: Instrução Normativa n° 1, de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000).

A legislação brasileira prevê, também, a medida do índice de refração a 20ºC, de acordo com a concentração do produto (Tabela 3).

Concentração	Índice de Refração
3x	1,3681 – 1,3710
4x	1,3796 – 1,3820
5x	1,3911 – 1,3940
6x	1,4041 – 1,4070
7x	1,4149 – 1,4175

Tabela 3. Índices de refração a 20ºC para suco de limão concentrado.

Fonte: Decreto Nº 12.486, de 20 de outubro de 1978 - Estado de São Paulo.

1.3 Composição e valor nutritivo

O suco de limão é rico em vitamina C (ácido ascórbico), pró - vitamina A (carotenóides) e minerais, principalmente o potássio (Tabela 4). O óleo, extraído da casca, tem como principal substância volátil o limoneno e outros monoterpenos (40 a 120mg/100mL), apresentando além de carotenóides, flavonas.

As clorofilas a e b são os pigmentos predominantes encontrados na casca do fruto verde (imaturo), enquanto no maduro a casca apresenta cor amarela ou laranja com a predominância de carotenóides como o b-caroteno, havendo redução de acordo com o

amadurecimento. Flavonoides também são encontrados.

O teor de lipídios em sucos cítricos é irrelevante, situando-se em torno de 0,20% e os ácidos graxos predominantes são o palmítico (C 16: 0 = 14,20%), oléico (C 18: 1 = 21,04%), linolêico (C 18: 2 = 24%) e o linolênico (C 18: 3 = 6,16%), representando 65,4 % do total.

A acidez titulável e o teor de sólidos solúveis são parâmetros importantes para a obtenção do valor de *ratio* que indica o sabor do produto. Se a acidez for muito elevada, o suco pode ficar muito ácido e mascarar o teor de açúcares presente.

O suco de limão recém-colhido apresenta pH em torno de 2,3 sendo os ácidos orgânicos mais abundantes o cítrico (5,33 g/100mL) e o málico (0,35g/100mL).

A principal substância volátil encontrada nos sucos cítricos é o limoneno (hidrocarboneto terpênico) cujo teor médio é de 140,75mg/mL. Porém, aquelas responsáveis pelo aroma característico do suco são encontradas em menor quantidade – o citronelal e o citral (neral e geranial).

Composição química	Quantidade (g)	Minerais	Quantidade (mg)
Água	221,38	Cálcio	17,00
Proteínas	0,93	Ferro	0,07
Lipídios totais	0,00	Magnésio	15,00
Cinzas	0,63	Fósforo	15,00
Carboidratos	21,06	Potássio	303,00
Fibra da dieta	1,00	Sódio	2,00
Açúcares	5,86	Zinco	0,12
Energia	61kcal	Cobre	0,071
Acidez titulável, em ácido cítrico (g/244g)	12,4	Manganês	0,020
		Selênio	0,200mg
Vitaminas	**Quantidade (mg)**	**Outros**	**Quantidade (mg)**
Vitamina C	112,200	β-Caroteno	7
Tiamina	0,073	β-Criptoxantina	4
Riboflavina	0,024	Luteína-Zeaxantina	22
Niacina	0,244		
Ácido pantotênico	0,251		
Vitamina B6	0,124		
Folato total	32mg		
Vitamina A	46UI		

Tabela 4. Composição do suco de lima ácida Tahiti (um copo ou 244g).

Fonte: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18 (2005).

Na Tabela 5, podem ser observados os teores das substâncias responsáveis pelo aroma e sabor dos sucos de limão e cítricos, de uma forma geral.

2 I MATÉRIA-PRIMA

Os frutos são ovalados, geralmente sem sementes, peso médio de 70g, rendimento de suco de cerca de 50%, textura firme, polpa de cor amarelo-esverdeada, teor sólidos

solúveis totais de 9º Brix, acidez titulável de 6% (g de ácido cítrico/100mL) e índice de maturidade de 1,5 (amarelo esverdeado).

A casca alcança naturalmente a cor amarela, entretanto, o mercado demanda por frutos de coloração verde. Como fruto não climatérico, é colhido de vez, quando já completou sua maturidade.

As vantagens desta variedade são o seu sabor e a ausência de sementes, devido a sua constituição genética triplóide, produzindo pólen não viável. A lima ácidaTahiti é comercializada *in natura* e como suco fresco ou concentrado (65º Brix) para reconstituição em água.

Substâncias Voláteis	**Quantidade**	
	(mg/L)	**(%)**
Metanol	0,2843	0,2020
Isopropanol	0,169	0,1207
α-Pineno	0,39	0,271
Acetato de butila	3,00	1,4723
3-Heptanona	0,46	0,3427
Limoneno	111,07	78,838
Ocimeno	5,31	3,8517
Nonanol	0,39	0,2570
Linalool	0,017	0,015
α-Terpineol	1,807	1,304
Valenceno	4,807	3,340
α-Terpineno	0,540	0,459
β-Ionona	1,320	0,3467
β-Pineno	0,210	0,020
Terpineno-4-ol	0	0
p-Cimeno	1,993	1,747
Hidrocarbonetos monoterpênicos	85,308	-

Tabela 5. Substâncias voláteis presentes no suco de limão integral.

Antes que a matéria-prima seja enviada à indústria, para sua transformação, alguns aspectos pós-colheita devem ser considerados.

O fornecimento de matéria-prima para a indústria deve focar três aspectos: qualidade, quantidade e continuidade. A fim de que estes fatores sejam alcançados, deve-se conduzir o pomar de maneira profissional, utilizando-se as informações disponíveis de manejo e as tecnologias desenvolvidas pela pesquisa e divulgadas pela extensão.

A indústria exige frutos com coloração de casca ainda verde. Uma vantagem em se colher verde é evitar a ocorrência da podridão estilar, que compromete o rendimento e a qualidade do suco extraído. O ponto de colheita da lima ácida Tahiti é o de coloração C2, ou seja, casca verde-escura e parcialmente lisa. Mesmo colhendo-se no estádio ideal, é fundamental que a fruta seja manuseada com cuidado na colheita e, em todas as etapas posteriores evitando, ao máximo, a perda da qualidade obtida no campo.

2.1 Qualidade

A perda de qualidade dos frutos pode ocorrer em função da deficiência de fósforo, provocando o fenômeno de columela aberta que afeta o rendimento de suco e, a deficiência de potássio, o mais requerido dos macro-elementos, que promove redução do tamanho médio dos frutos e aumento da espessura do albedo. O excesso de potássio, apesar de aumentar o tamanho médio dos frutos, reduz o teor de sólidos solúveis e a acidez, importantes atributos de qualidade. Baixos níveis de cálcio reduzem o pegamento dos frutos e, consequentemente, a produtividade do pomar.

2.2 Colheita

As técnicas não destrutivas mais utilizadas para avaliar o estádio de maturação do fruto são cor e tamanho do fruto. Os limões podem ser colhidos no estádio de maturação que apresenta cor verde escura ou, quando a casca começar a apresentar cor amarela. Os frutos colhidos com casca verde escuro têm sua vida útil pós-colheita prolongada. Entretanto, mesmo assim, podem não alcançar teores máximos de obtenção de suco. Quando o fruto é retirado da planta na cor de casca mais amarela, deverá ter um teor mais elevado de suco, que é o desejado pelas indústrias processadoras de sucos.

O tamanho do fruto pode também ser utilizado para determinar a maturidade fisiológica para a colheita. Tanto para limões como limas ácidas, os frutos com diâmetro menor do que 50mm, não são considerados suficientemente desenvolvidos e podem apresentar rendimento de suco abaixo do desejável. Os frutos destinados à indústria de sucos devem possuir no mínimo 68mm de diâmetro mínimo. Uma medida simples seria dotar os empregados responsáveis pela colheita com um anel com este diâmetro para avaliar os frutos ainda na planta.

O volume de suco é o parâmetro interno mais utilizado para determinar o estádio de maturação dos frutos na colheita. O padrão geralmente aceito para a maturidade comercial adequada para colheita é um rendimento mínimo de 28% de suco (p/p).

Os limões devem ser colhidos, com cuidado, torcendo e puxando o fruto da planta. A haste da região peduncular deve permanecer unida ao fruto para evitar injúrias e servir de porta de entrada para contaminação pós-colheita. Para tanto, deve-se colher os frutos com cuidado para evitar esse tipo de injúria. Frutos com injúrias mecânicas podem ser contaminados por microrganismos e ficarem inviabilizados para o uso no processamento de sucos.

A planta nunca deve ser agitada para a colheita dos frutos, pois este procedimento pode causar danos à casca, seu por atrito com as folhas e ramos. Os frutos caídos no pomar com injúrias não devem ser aproveitados, pois, estarão sujeitos a uma deterioração pós-colheita, mais rápida, além de contaminados por microrganismos provenientes do solo. Caso os frutos sejam colhidos sem cuidado, pode haver comprometimento da qualidade

do suco. Todas as injúrias mecânicas agravam a qualidade do fruto internamente, iniciando processos oxidativos que podem causar perdas de qualidade no sabor e na cor do suco a ser extraído. Escadas devem ser utilizadas para a colheita de frutos nas partes mais altas das plantas.

Após a colheita, os frutos devem ser colocados em área protegida de intempéries, o mais rapidamente possível. O uso de recipientes plásticos (*containers ou bins*) é recomendado, pois permite o seu empilhamento e a dissipação de calor dos frutos, sem causar danos.

3 I MICROBIOLOGIA

3.1 Microrganismos deteriorantes do suco de limão

O suco de limão ou de lima ácida por apresentar elevada acidez é suscetível a fungos filamentosos, leveduras e bactérias lácticas tolerantes a pH baixos quando processado, acondicionado e armazenado em condições inadequadas. Portanto, cuidados devem ser tomados quanto à sua prevenção e eliminação.

Os fungos são aeróbios e facilmente destruídos pelo tratamento térmico. Entre eles, o gênero *Byssoclamys*, normalmente das espécies *B. nívea* e *B. fulva*, é o mais preocupante, tendo em vista ser termorresistente, provocando separação de fase e produção de gases. É tolerado em sucos congelados, porém não em sucos processados termicamente (pasteurizados). A adição de conservantes químicos é prática bastante utilizada para seu controle associada ou não ao tratamento térmico.

Nos sucos concentrados e nos refrigerantes, é mais comum a ocorrência de leveduras também sensíveis ao tratamento térmico, porém seus esporos são resistentes em sucos concentrados, pela alta concentração de açúcares e o meio ácido que protege os esporos.

As bactérias lácticas (*Lactobacilllus* e *Leuconostoc*) possuem baixa resistência ao tratamento térmico. Portanto, se o tratamento térmico for adequado, são eliminadas pela pasteurização.

As características microbiológicas dos sucos de limão integral, concentrado e desidratado preconizadas pela legislação brasileira, encontram-se na Tabela 6.

A legislação prevê padrões microbiológicos também para os sucos envasados, os quais sofreram tratamento térmico adequado, preconizando sua incubação a 35ºC por 10 dias, não devendo ser observadas alterações nas embalagens bem como quaisquer modificações de natureza física, química ou sensorial do produto.

Tipo	Bactérias grupo coliforme (máximo)	Bactérias grupo coliforme fecal	Bolores e leveduras (máximo)	Salmonela	Contagem padrão em placas (CPP) (máximo)
Integrais	10^2/mL	ausência em 1mL	10^2/mL	Ausência em 25mL	-
Concentrados	2 x 10/g	ausência em 1g	10^2/g	Ausência em 25mL	5 x 10/g
Desidratados	2 x 10/g	ausência em 1g	10^2/g	Ausência em 25g	5 x 10/g

Tabela 6. Padrões microbiológicos para sucos de limão e lima ácida.

Fonte: Brasil, 2001 (Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001).

4 I PROCESSAMENTO

4.1 Refresco de limão

As informações sobre refresco de limão (limonada) são escassas porque este tipo de produto é processado em pequena escala – lares, restaurantes, padarias, lanchonetes, etc. Entretanto, como visto no item anterior, o mercado de refresco é importante, principalmente porque se trata de uso doméstico

O suco fresco de limão para a elaboração de refrescos é extraído com espremedores do tipo castanha. O suco fresco também pode ser obtido através do uso de liquidificadores semi-industriais misturando-se a polpa e a casca. Comumente, este segundo modo de obtenção de suco é utilizado na produção da limonada suíça. O suco fresco é normalmente processado logo após a sua obtenção, com adição de água, açúcar ou adoçante (edulcorante) para diminuir o efeito da acidez. O processamento do refresco de limão ou limonada está esquematizado na Figura 1.

Apesar de não haver dados precisos sobre a produção e consumo de refresco de limão, estima-se que este tipo de bebida abranja uma grande fatia do mercado de suco de limão no Brasil.

A legislação brasileira permite a comercialização de suco refrigerado, com vida útil curta, desde que seja armazenado e distribuído sob refrigeração entre 4 e 8ºC. Entretanto, normalmente não se verifica a existência deste tipo de suco sendo comercializado e sim, sendo obtido e consumido imediatamente na forma de limonada.

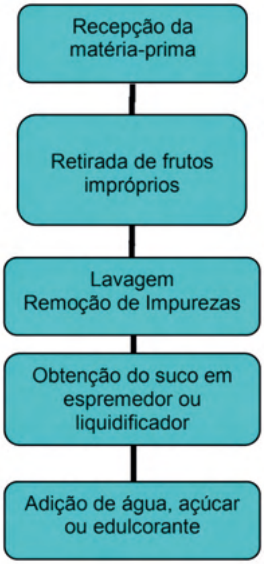


Figura 1. Fluxograma de processamento do refresco de limão.

4.2 Suco de limão integral pasteurizado

A produção de suco de limão pasteurizado está baseada na inativação enzimática, utilizando aquecimento, seguido de imediato resfriamento, até a temperatura de armazenamento do produto.

Existe pouca literatura sobre suco de limão pasteurizado e refrigerado. Entretanto, sabe-se que o suco apresenta uma vida útil muito curta, no máximo de 10 dias. Isso ocorre em função do desenvolvimento microbiológico, bem como alterações de escurecimento decorrentes de reações complexas de oxidação do produto. Tais alterações podem causar perda de qualidade sensorial, no que se refere ao aroma, sabor e aparência, inviabilizando sua comercialização.

No Brasil, existem poucas empresas que processam suco de limão pasteurizado. Como há disponibilidade da fruta o ano todo, não há demanda no mercado de suco integral processado pasteurizado industrialmente.

Geralmente, suco pasteurizado de limão pode ser armazenado a 4ºC por cerca de 20 a 30 dias. No Brasil, este produto se apresenta acondicionado em latas de 1 litro.

4.2.1 Recepção

Os limões são transportados a granel até a indústria através de caminhões que são pesados ao entrarem e depois ao saírem vazios do parque industrial. Este procedimento é realizado para quantificar o rendimento do suco em relação à massa dos frutos processados.

Geralmente, uma pequena amostra é coletada para que o teor de sólidos solúveis

(ºBrix) e a acidez dos frutos sejam determinados. Estas análises podem ser importantes para o ordenamento dos lotes a serem processados.

Em seguida, os frutos são armazenados em silos denominados *bins* por um período curto de tempo. Os silos são estruturas subdivididas horizontalmente e verticalmente que tem como finalidade limitar o peso sobre os frutos das camadas inferiores e possibilitar a identificação e acesso aos diferentes lotes. Cada subdivisão possui uma saída independente possibilitando um melhor aproveitamento do rendimento e qualidade do suco.

4.2.2 Inspeção e lavagem

Dos silos, os frutos são transportados em esteiras para que os frutos sejam inspecionados (Figura 2) e para a retirada daqueles impróprios (podres, doentes ou danificados).

Figura 2. Seleção de frutos quanto à qualidade.

Nas esteiras, são lavados com jatos aspersores de água para a retirada das sujidades da casca. Esta etapa é importante para que não haja contaminação do suco na etapa de extração. Geralmente, utiliza-se água industrial contendo 80 a 100ppm de cloro. Nesta etapa, os frutos são transportados em esteira contendo roletes, para que estes girem em torno do seu próprio eixo, fazendo com que toda a extensão da casca seja adequadamente lavada (Figura 3).

Figura 3. Separação por tamanho e lavagem de frutos.

Durante a lavagem, os frutos passam por uma escovação para remoção das sujidades que possam ainda estar aderidas à casca e que não tenham sido removidas pelos jatos aspersores de água. As escovas possuem cerdas de náilon e neste caso também pode ser utilizado jato de água quente.

4.2.3 Corte, extração e centrifugação

Após a etapa de lavagem, inicia-se o processo de obtenção do suco. Nas Figuras 4, 5a e 5b observa-se o extrator *FMC Citrus Juice*. Neste equipamento, os frutos inteiros são prensados de cima para baixo e de baixo para cima simultaneamente. Desse modo, o suco é extraído e a casca e sementes são separadas do suco pelo sistema de pré filtração que fica abaixo de onde os frutos são espremidos mecanicamente.

Os extratores *FMC Citrus Juice* possuem três modelos. O primeiro (CJE 291) é utilizado para limões de tamanho pequenos; o segundo (CJE 391), para os frutos de tamanho médio; e o terceiro (CJE 491), para os frutos de tamanho grande.

O extrator *FMC Citrus Juice* é o único sistema de extração capaz de obter o óleo da casca dos frutos simultaneamente ao processo de extração do suco. Este recurso não só minimiza o espaço e energia necessária para obter óleo como também alcança rendimentos elevados de obtenção do óleo.

A qualidade e a quantidade de suco obtidos pelo extrator *FMC Citrus Juice* é melhor e maior, uma vez que o suco obtido não apresenta sabor amargo pois há retirada imediata das cascas, membranas e sementes. Estes constituintes são separados imediatamente por tubos chamados de (*prefinisher*) que é um pré-filtro e depois por filtros complementares durante o processo de extração.

Após a extração, o suco é conduzido ao *finisher* para separação final de componentes sólidos do suco de limão. O *finisher* possui peneiras intercambiáveis e um sistema de regulagem de pressão, que permite o controle do teor de polpa no suco e da quantidade de suco arrastado pela polpa. A polpa removida deve conter o mínimo de suco possível. A

pressão aplicada também não deve ser excessiva para não incorporar excesso de pectina e de outros componentes que possam comprometer a qualidade do suco.

Finalmente, o suco passa pela etapa de centrifugação, para a separação de sólidos insolúveis. Durante esta operação, o teor de polpa é reduzido para cerca de 1 a 4%. O teor de polpa final do produto é definido pelo cliente. Esta etapa é denominada clarificação, pois permite, de maneira mais refinada, a remoção da polpa. O suco clarificado é encaminhado para um tanque de equilíbrio de fluxo.

A polpa, separada na centrífuga juntamente com a polpa dos extratores é encaminhada para a linha de extração de suco de polpa lavada.

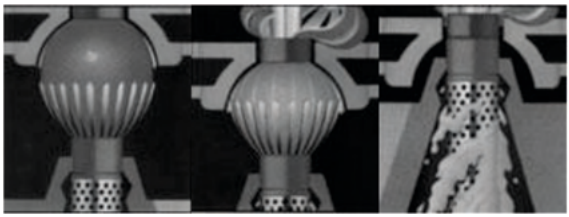
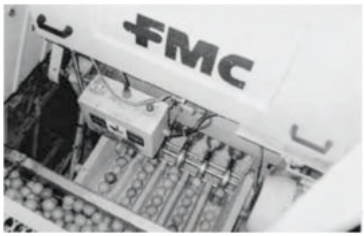


Figura 4. Acomodação e fixação dos limões para a extração no *FMC Citrus Juice*.



(a)

(b)

Figuras 5 (a) e (b). Extratores de sucos cítricos *FMC Citrus Juice.*

O extrator do tipo *Brown* é também capaz de obter sucos com alta qualidade e alto rendimento. Este extrator pode ser equipado com componentes para acomodar laranjas, limões, limas, e tangerinas de diversos tamanhos.

Este extrator possui um alimentador composto por copos que recebem os frutos inteiros. Em seguida, os frutos são cortados em duas metades. As duas metades são então prensadas por espremedores iguais aos usados em cozinhas industriais. A ponta dos espremedores é de material inerte do tipo PVC (Figura 6).

O extrator *Brown* é projetado para extrair o suco pressionando o fruto contra a casca sem com isso rompê-la. Este método permite uma extração suave através de prensagem sem que o suco fique com o amargor dos constituintes da casca.

O suco obtido por prensagem é livre de todo o albedo e flavedo. Uma importante

vantagem do método é que os numerosos componentes indesejáveis da casca não são liberados para o suco. O grau extração de suco alcançado é determinado pela pressão aplicada na ponta dos espremedores.

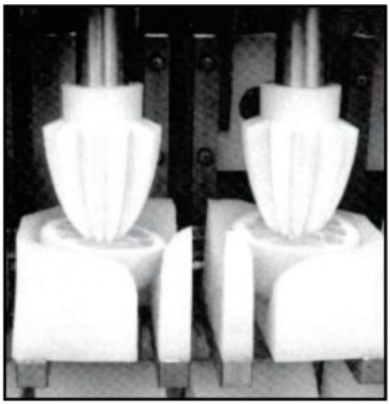


Figura 6. Visão do limão cortado em metades no extrator *Brown*.

Os extratores *Brown* são utilizados quando se quer separar o suco e o óleo, simultaneamente (Figura 7). Para limões, a seqüência de extração se inicia com a recuperação do óleo essencial.

O extrator *Brown* possui eixos longos que cortam e esmagam os frutos. Cada eixo contém inúmeras pontas cônicas que podem ser de aço inoxidável ou PVC (está em desacordo com a descrição da página 16 e com as figuras 5 e 8). As pontas rotatórias trabalham em pares por toda a superfície do extrator de modo a realizar a extração do suco continuamente através de compressão das frutas cortadas em metades.

Figura 7. Extrator de sucos cítricos *Brown*.

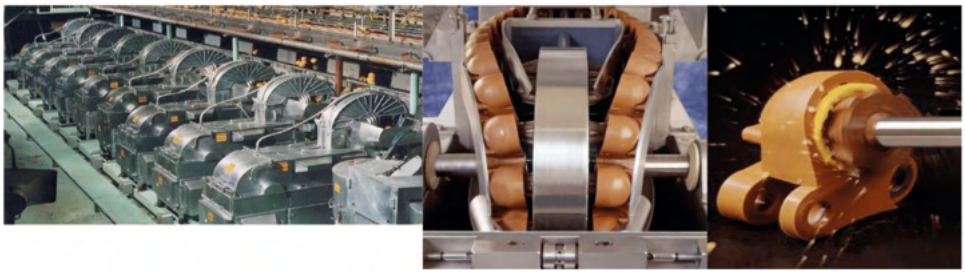


Figura 8. Vista da parte interna do Extrator *Brown.*

4.2.4 Mistura e desaeração

Na etapa de mistura, são retiradas amostras do suco para análises de ºBrix, pH e acidez. De acordo com os resultados, realiza-se mistura de sucos para serem encaminhados aos clientes, segundo suas exigências específicas. Essa mistura é realizada em tanques de *blendagem*, que possuem sistemas de agitação e refrigeração, além de sistemas automáticos para controle do processo.

Na etapa de desaeração, o suco é introduzido em uma câmara mantida a vácuo, onde contém um disco giratório que espalha o produto como um aspersor enquanto uma bomba de vácuo extrai o ar do interior. Sob vácuo, o produto entra em ebulição a baixa temperatura e o vapor de água formado arrasta os gases não-condensáveis, dissolvidos, dispersos e absorvidos no suco. Na Figura 9, pode ser observado um esquema de desaerador.

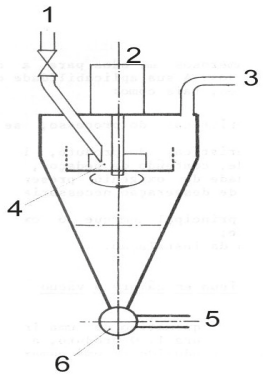


Figura 9. Desaeração contínua em câmara de vácuo. (1) Entrada do produto; (2) Motor de acionamento do distribuidor; (3) Tomada para saída do ar - bomba de vácuo; (4) Disco de distribuição do suco; (5) Saída do suco desaerado; (6) Bomba de extração de produto.

A operação de desaeração tem por objetivo a remoção do oxigênio dissolvido no suco. A retirada do oxigênio é importante, uma vez que é responsável pela oxidação do ácido ascórbico. A reação do oxigênio com ácido ascórbico produz compostos com

radicais carbonila que reagem com grupos amino, que através de polimerização, produzem pigmentos escuros, causando o escurecimento do suco de limão.

4.2.5 Pasteurização e envase

A pasteurização tem como finalidade a obtenção da esterilidade comercial e a inativação de enzimas como a pectinesterase (responsável pela hidrólise da pectina) causando perda de turbidez dos sucos de limão. A fim de minimizar a perda das características sensoriais, a *flash-pasteurization* (pasteurização rápida) é recomendada utilizando-se temperatura de 90ºC por um tempo máximo de 1 minuto. Normalmente, 40 segundos é o tempo utilizado para garantir a eficiência do processo.

Os equipamentos mais utilizados na pasteurização são os trocadores de calor do tipo placas ou tubulares (mono ou multitubular). No primeiro caso, o suco circula em fina lâmina entre duas placas, no qual o vapor transfere calor latente ao suco, que se aquece. Geralmente, são utilizadas temperaturas entre 90 a 95ºC por 30 a 60 segundos. A pasteurização rápida preserva o sabor e o valor nutricional do suco, por se tratar de um choque térmico muito rápido, seguido de resfriamento.

O resfriamento do suco de limão é realizado simultaneamente no mesmo equipamento. O resfriamento acontece através do contato indireto do suco que está saindo do pasteurizador com o suco que está entrando, diminuindo assim a temperatura do suco pasteurizado e aumentando a temperatura do não pasteurizado. No final do pasteurizador há um segundo resfriamento que resfria totalmente o suco abaixando bem a sua temperatura abaixo de 10ºC para sua melhor conservação. A refrigeração é utilizada para reduzir as alterações bioquímicas e microbiológicas, aumentando a vida de prateleira do produto.

Geralmente, o suco de limão é embalado em latas de 1 (um) litro, para consumo doméstico ou em tambores de 200 quilos, quando se destina às indústrias de sorvetes, néctares, entre outros produtos.

O suco de limão pasteurizado e congelado pode ser também encontrado nos supermercados em embalagens individuais de polietileno com capacidade que varia de 10 a 100g.

Na Figura 10, pode ser observado o fluxograma do processamento do suco de limão pasteurizado e, nas Figuras 11 e 12, o desenho esquemático e a fotografia de um pasteurizador.

Atualmente, com o desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias que visam minimizar os efeitos do tratamento térmico, a filtração por membranas, a alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsante são alternativas ao processamento térmico visando à esterilidade comercial de sucos a frio.

4.3 Suco de limão concentrado

O suco de limão concentrado é matéria-prima básica para diferentes tipos de indústria, como bebidas e sorvetes, tendo a vantagem da redução de custos de transporte, uma vez que se transporta mais suco e menos água. Além disso, outra vantagem é a estabilidade microbiológica, uma vez que o suco concentrado possui elevada concentração de sólidos solúveis e, consequentemente, sua atividade de água é menor, diminuindo a possibilidade de desenvolvimento microbiano.

Figura 10. Fluxograma do processamento de suco de limão pasteurizado.

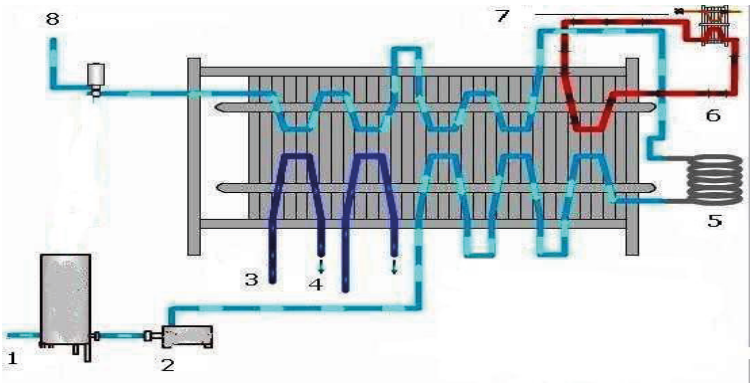


Figura 11. Desenho esquemático do sistema de pasteurização. (1) Suco não-pasteurizado; (2) Bomba; (3) Água Fria; (4) Água Quente; (5) Serpentina de Controle; (6) Água Superaquecida; (7) Vapor de Aquecimento; (8) Suco Pasteurizado.

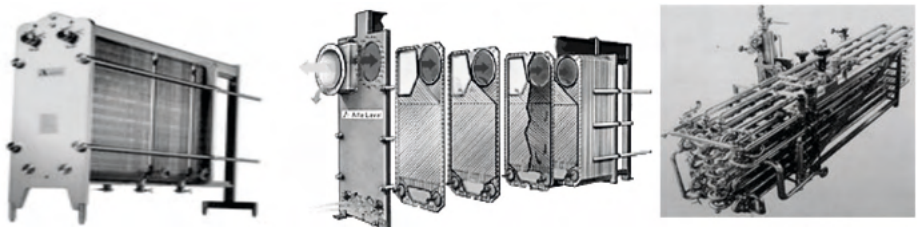


Figura 12. Trocadores de calor de placas e tubular.

O processamento de suco de limão concentrado segue as mesmas etapas do processamento do suco pasteurizado (item 4.2), descritas anteriormente, com posterior concentração.

4.3.1 Pasteurização e concentração

O suco concentrado apresenta vantagens como redução do tamanho da embalagem, espaço para estocagem, redução de custo de transporte e, o mais importante, o aumento de sua vida de prateleira (*shelf-life*), embora ocorram maiores perdas em suas características sensoriais.

O suco de limão possui um complexo sistema coloidal de partículas em suspensão. Estas partículas em suspensão são responsáveis pela alteração da cor, sabor e aroma. O suco de limão é constituído de vários materiais poliméricos, principalmente proteínas e pectinas, além de grandes quantidades de flavonóides, fosfolipídios e outros constituintes de baixo peso molecular. A pectina atua como suporte na estabilização da fração de proteína do suco de limão, mas pode ser desestabilizada pela enzima pectinesterase.

A pectinesterase é a principal enzima presente no suco de limão e catalisa a hidrólise da molécula de pectina formando ácido péctico e metanol. Esta reação pode causar a

desestabilização do suco, promovendo opacidade, geleificação e formação de compostos insolúveis que tendem a sedimentar no fundo da embalagem, acarretando perda na qualidade do suco ao longo de sua vida útil.

A inativação da enzima é realizada na etapa de pasteurização com temperaturas entre 90 e 95ºC por 30 a 60 segundos. O binômio tempo/temperatura varia em função do tipo de equipamento utilizado e das características do suco processado. Quanto maior o pH e o teor de polpa do suco, mais severo deverá ser o tratamento térmico.

Após a pasteurização, o suco deverá sofrer concentração (remoção de água), utilizando-se evaporadores. Os evaporadores funcionam sob vácuo e baixa temperatura. Essas características permitem a obtenção de suco com alta qualidade e consumo mínimo de energia. A economia de energia se deve ao uso de evaporadores em linha, reutilizando o vapor vegetal. Esses evaporadores são chamados de múltiplo efeito e podem chegar a até 7 efeitos.

Os conjuntos de evaporadores em linha e a vácuo funcionam com até 8 estágios e 7 efeitos. Estágio é a designação industrial para um evaporador, refere-se às etapas do processamento do suco. Efeito é a designação industrial para a ação do vapor durante o aquecimento do suco dentro do evaporador. Para cada quilo de vapor utilizado para o aquecimento consegue-se evaporar 5,3 quilos de água, quando se utilizam 7 efeitos.

A cada estágio, o suco sofre um pré-aquecimento, e deste modo, ao entrar no evaporador, o suco apresenta uma temperatura muito próxima a do equipamento. Na saída de cada evaporador, existe um dispositivo que separa a água na forma de vapor do suco de limão.

O evaporador mais utilizado na concentração do suco de limão é o TASTE (*Thermally Accelerated Short Time Evaporator*), mostrado na Figura 13.

Figura 13. Evaporador TASTE (*Thermally Accelerated Short Time Evaporator*).

Durante a concentração, alguns problemas podem ocorrer. A polpa e os colóides podem promover uma gelatinização indesejada e a perda de aroma, principalmente da fração volátil, caso a planta de processamento não possua recuperador de aromas, redução do teor de carotenóides e o escurecimento do suco. Para se obter um produto de melhor qualidade, o suco é concentrado a 55 – 63ºBrix.

O tempo total de retenção do suco durante o processo de concentração é de até 3,5 minutos, com a temperatura variando entre 45 e 88ºC e vácuo também variável. O vapor de água é separado do suco de limão e serve para o aquecimento dos demais estágios que trabalham com temperaturas menores, mas com vácuo maior.

A água evaporada do suco, depois de condensada é reutilizada na indústria para a lavagem dos frutos, trazendo economia de água. Antes da sua reutilização, esta passa por equipamentos responsáveis pela recuperação do aroma de limão. Esta etapa é necessária, uma vez que certos compostos de baixo ponto de ebulição são removidos com a água evaporada. Os compostos aromáticos são recuperados através de um processo de destilação, sendo posteriormente adicionados ao suco concentrado. É importante frisar que os evaporadores e recuperadores de aromas devem operar de forma sincronizada a fim de que se obtenha um suco de boa qualidade.

Outra técnica utilizada na concentração de sucos é a crioconcentração onde o suco é pulverizado, numa câmara de congelamento. Este processo envolve a cristalização fracionada da água e sua conseqüente remoção. O crioconcentrador possui um separador para remover os cristais de gelo da solução concentrada. O separador pode operar por sistemas de centrifugação ou membranas.

O suco, após a pasteurização, pode também ser concentrado por membranas de osmose inversa (reversa), que preserva melhor as suas características físicas, químicas e sensoriais. A concentração por osmose consiste na permeação do suco integral – hidrolisado por enzimas comerciais, a fim de reduzir sua viscosidade – por membranas densas, com poros variando de 1 a 10 Angstrons, com mecanismo de separação por difusão que separa moléculas de baixo peso molecular e íons. Normalmente é necessário pressões entre 10 a 20 bar.

Ao final de cada período de trabalho da unidade de processamento, deve-se realizar a limpeza e sanitização dos equipamentos e utensílios. A limpeza e higienização são importantes para a garantia da qualidade do suco. O suco ácido e muito concentrado é susceptível ao desenvolvimento de bactérias lácticas. Essas bactérias têm a capacidade de se desenvolverem em ambientes ácidos, concentrados e com vácuo, produzindo ao final do seu metabolismo dois compostos conhecidos como diacetil e metilcarbinol, que conferem sabor e odor desagradável e forte. Estes compostos também reagem com a creatina produzindo uma coloração rosada e indesejável ao suco.

Deve-se tomar cuidado, também, com o aumento de hesperidina, um flavonóide indesejável, que pode conferir sabor amargo, ao suco de limão. Esta substância pode

aderir às paredes dos equipamentos e, causar diminuição da qualidade sensorial do suco. Portanto, a limpeza e a higienização adequadas diminuem, sobremaneira, o risco do acúmulo de hesperidina.

4.3.2 Homogeneização e resfriamento

Após a concentração, o suco é conduzido aos tanques de homogeneização e resfriamento. O suco de limão sai do evaporador a uma temperatura de 45ºC. Em seguida, o suco passa por um equipamento denominado "flash cooler" que tem como função reduzir a temperatura de saída do suco até 24ºC (Figuras 14 e 15).

O resfriamento dos tanques é realizado através de um sistema contendo solução gelada de água-álcool. Neste sistema, o suco é resfriado até alcançar 5ºC. Em seguida, é bombeado para trocadores de calor de placas, onde será resfriado até –5ºC. A temperatura final de armazenamento do suco de limão varia entre – 9 e – 7ºC. Na operação de resfriamento, há necessidade de padronização e homogenização do suco para que não apresente diferenças no sabor e na sua consistência.

Figura 14. *Flash cooler* – detalhe do sistema de aquecimento e resfriamento.

Figura 15. *Flash cooler* – vista geral.

4.3.3 Enchimento e Armazenamento

O suco resfriado entre –9 e –7ºC é levado para a etapa de enchimento, em local isolado e isento de insetos e vetores. Neste local, o suco é acondicionado em tambores revestidos com uma camada interna de verniz especial e dois sacos plásticos de 100 micra de espessura, um por dentro do outro e envolvendo toda a parte interna dos tambores. O enchimento é controlado automaticamente por uma enchedeira acoplada a uma balança que interrompe o fluxo quando o peso do suco atinge a capacidade total do tambor.

Após o enchimento, os sacos plásticos são amarrados individualmente com fios de náilon e os tambores são fechados com tampa, utilizando uma prensa hidráulica, sendo a seguir etiquetados e codificados com códigos de barras para identificação dos lotes e colocados em esteiras hidráulicas de transporte para serem armazenados.

Os tambores são armazenados em câmaras frias com temperaturas entre –18 e –23ºC para assegurar um tempo de vida útil adequada à distribuição e comercialização do suco de limão.

Suco de limão concentrado para mercado doméstico pode ser embalado em latas contendo 1 quilo. Desta forma, o consumidor doméstico pode realizar a diluição que julgar mais conveniente ao seu paladar, antes de consumir o produto.

4.4 Suco desidratado de limão

A legislação brasileira define o suco desidratado como sendo o suco no estado sólido, obtido pela desidratação do suco integral, devendo conter a expressão “suco desidratado”. Também o define como um preparado sólido para mistura em bebidas, à base de sucos, extratos vegetais ou aromas isolados ou em conjunto, podendo ser adicionado de açúcares, edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos e outros aditivos previstos em atos administrativos destinados à elaboração de bebida, para o consumo imediato, pela adição de água potável (BRASIL, 2000).

4.4.1 Desidratação

O processo de secagem mais utilizado é consiste em pulverizar o produto dentro de uma câmara submetida a uma corrente controlada de ar quente, e dessa maneira se consegue uma evaporação da água, obtendo-se uma separação ultrarrápida dos sólidos solúveis contidos, com a mínima degradação do produto. Este processo é mais conhecido como secagem por *spray-dryer*, terminando esse processo com a recuperação do produto já em pó.

A eficácia do processo está baseada no princípio do aumento de área de contato entre o material a ser seco e o agente desidratante, ou seja, o ar quente. Geralmente, o equipamento de *spray dryer* utiliza câmaras pressurizadas com atmosfera de 1mm de mercúrio (Hg) (Figura 16).

Após a etapa de concentração, ocorre a pulverização do suco concentrado e, para acelerar a secagem e reduzir o comportamento higroscópico do pó, são adicionadas pequenas quantidades de aditivos (naturais ou artificiais) ou açúcar (sacarose e maltodextrina) e grandes quantidades de pectina.

Os aditivos utilizados na formulação de pós para bebidas são ácido cítrico (acidulante); aroma idêntico ao natural de limão (aromatizante); citrato de sódio (tamponante); fosfato tricálcico (antiumectante); gomas guar e xantana (estabilizantes), óxido de titânio (corante inorgânico); tartrazina INS 102 (corante artificial); ácido ascórbico (antioxidante) e, algumas vezes o aspartame, o ciclamato de sódio e sacarina sódica (edulcorantes).

Figura 16. *Spray-dryer.*

4.4.2 Acondicionamento em embalagens

Os sucos desidratados são acondicionados em embalagens flexíveis de papel cartonado, alumínio e revestimento plástico a fim de evitar a atuação do oxigênio, luz e umidade. São encontradas no mercado, embalagens contendo de 10g até 5kg de preparado sólido. As embalagens menores se destinam ao mercado doméstico e as embalagens maiores ao mercado industrial.

4.5 Suco reconstituído

O suco reconstituído é obtido pela diluição do suco concentrado até a concentração do suco integral ou ao teor de sólidos solúveis estabelecido nos respectivos padrões de identidade e qualidade para o suco integral de limão. É obrigatório constar na sua rotulagem que o suco reconstituído foi obtido a partir da diluição do suco concentrado, sendo opcional o uso da expressão “reconstituído”.

Os aditivos intencionais utilizados na formulação e obtenção de sucos visam sua preservação quanto à ação de microrganismos deteriorantes (bactérias, bolores e leveduras). O ácido cítrico pode ser adicionado aos sucos sem limite máximo, para o efeito desejado. Porém, a legislação preconiza limites máximos para outros conservantes como

antioxidantes. Os antioxidantes são capazes de evitar a proliferação de microrganismos aeróbios facultativos e o escurecimento enzimático e não enzimático podendo-se citar o ácido ascórbico, dióxido de enxofre e o metabissulfito. Os aditivos mais utilizados na preservação de sucos cítricos, permitidos pela legislação, de uma forma geral, são o ácido benzóico, o ácido sórbico e os cloretos de sódio e cálcio.

4.6 Néctar e bebida de limão

O néctar e a bebida contendo exclusivamente limão são pouco consumidos no Brasil. Normalmente, produtos de limão participam como ingrediente dos néctares mistos, hoje encontrados comercialmente como, por exemplo, néctares mistos de laranja, limão e cenoura, ou de frutas cítricas, nos quais sucos concentrados são diluídos e misturados, sendo adicionada pectina, acidulantes (ácido cítrico e ácido ascórbico), corantes naturais (β-caroteno) e aroma natural de limão.

5 I SUBPRODUTOS DO SUCO DE LIMÃO

5.1 Suco de polpa lavada

O suco de polpa lavada também não é comercializado no Brasil, sendo produzido a partir da polpa remanescente da extração mais a adição de água, a fim de aumentar o rendimento e, a seguir, incorporado ao suco da primeira extração (integral) e concentrado.

5.2 Óleo essencial do limão

O óleo essencial de limão é o mais importante subproduto da industrialização do suco, podendo ser utilizado em diversos setores industriais como a agroindústria, incluindo alimentos, perfumaria e farmacêutica.

O óleo essencial de limão é definido como um líquido de coloração amarelo dourada ou amarelo esverdeada, quando recentemente elaborado, apresentando aroma agradável e sabor inicialmente aromático e adstringente. Normalmente, sofre alteração pela exposição ao ar e à luminosidade.

Na Tabela 7, são apresentadas as características físicas e químicas de um óleo essencial de boa qualidade.

5.2.1 Matérias-primas e qualidade do óleo essencial

O óleo essencial do limão é extraído a partir da casca, podendo sua extração ser realizada por prensagem manual para obtenção de produto com excelente qualidade. Porém, por razões econômicas, a produção industrializada é predominante.

Parâmetros	Brasil	EUA	Espanha	Mercado*
Peso específico a 25ºC (g/cm³)	0,851	-	0,851	0,852 a 0,858
Poder rotatório a 25ºC	63°30'	-	62°40'	57 a 65°
Índice de Refração a 20ºC	1,4746	-	1,4748	1,474 a 1,476
Citral (%)	2,0	1,5	3,4	3 a 5
Resíduo após evaporação (%)	3,8	0,5	3,7 a 4,1	1,5 a 3,6
Índice de Acidez (máx.)	-	-	-	1,4

Tabela 7. Características físicas e químicas de óleos essenciais de limão produzidos no mundo.

* aceitos mundialmente.

A qualidade do óleo essencial depende, em muito, do estádio de maturação do limão, sendo ideal a colheita dos frutos mais maduros por conterem um maior percentual de óleos essenciais. Quando o fruto passa do ponto ideal de maturação a qualidade do óleo diminui.

Óleos essenciais de boa qualidade contêm cerca de 5% de citral, concentração esta que é extremamente variável, a cada ano.

5.2.2 Composição do óleo essencial de limão

O óleo essencial de limão apresenta em sua composição uma mistura complexa de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, aldeídos, cetonas e outras substâncias voláteis. O limoneno é a substância mais abundante nos óleos essenciais de frutos cítricos, incluindo o limão, podendo corresponder a cerca de 90% do conteúdo de substâncias voláteis. Na Tabela 8, encontram-se algumas substâncias presentes no óleo de limão.

As substâncias responsáveis pelo aroma do óleo essencial de limão são o otileno, a e b-pineno, canfeno, metilheptenona, β-felandreno, d-limoneno, seu principal componente, g - terpineno, a-terpineol, aldeídos C 8, 9, 10 e 12 (laurílico), citronelato, citral e acetato de geranila (ésteres), nerol e citronerol bisaboleno, cadineno (álcool primário sesquiterpênico), sendo encontrados outros compostos, como os ácidos caprínico, acético e láurico.

Os Estados Unidos (Califórnia) e o Brasil (São Paulo) encontram-se na vanguarda entre os competidores dos óleos essenciais**,** sendo também produzidos na Espanha e Israel e, mais recentemente, na ilha de Chipre.

No Brasil, a produção de óleo essencial de limão desenvolveu-se principalmente em São Paulo, durante a segunda guerra mundial devido à baixa produção na Itália, naquela época.

A qualidade do óleo de limão brasileiro ainda é bem inferior àqueles italianos e espanhóis, quanto ao teor de citral. Israel e Chipre possuem óleos de melhor qualidade que são exportados para a Grã-Bretanha.

Substância	Concentração (%)
α - Tujeno	0,60
α - Pineno	2,13
Sabineno	1,79
β - Pineno	11,17
β - Mirceno	1,51
Limoneno	58,64
g -Terpineno	14,82
α -Terpinoleno	0,70
Linalol	0,17
Neral	1,26
Geranial	2.09
Acetato de nerila	1,05
β - Cariofileno	0,65
Trans - α -Bergamoteno	1,26
β -Bisaboleno	2,18

Tabela 8. Substâncias voláteis presentes no óleo de limão.

Fonte: Francheschi et al., 2004.

5.2.3 Extração do óleo essencial de limão

O óleo essencial de limão é extraído das cascas pelo processo de prensagem que rompe as glândulas de óleo contidas no flavedo (parte mais externa da casca). O equipamento mais utilizado é o extrator FMC ou ainda, o sistema por abrasão através de raspadora Brown. O óleo obtido é lavado por aspersores, resultando em uma emulsão óleo-água e resíduos. A seguir, a emulsão é separada dos resíduos pela passagem em *finisher* com peneiras de 5 a 7mm de diâmetro (Figura 17).

A emulsão é então centrifugada em centrífuga de 2 estágios onde, no primeiro estágio, há a quebra da emulsão pela elevada força centrífuga que separa a mistura em 2 fases: a fase aquosa é descartada; a fase sólida, mais rica em óleos (70 – 80%), é utilizada para obtenção do óleo essencial. No segundo estágio, a centrífugas opera em alta velocidade separando o óleo dos possíveis resíduos. A água utilizada retorna aos extratores para recuperação de óleo.

Durante a extração do óleo essencial, polissacarídeos (pectina) são incorporados à emulsão óleo-água aumentando sua viscosidade. Este efeito pode ser minimizado com a utilização de enzimas com atividade poligalacturonase que irá atuar sobre a pectina e, também contribuir para o aumento do rendimento da extração de óleo essencial.

Existem outras técnicas para a obtenção do óleo essencial, podendo-se citar a prensa hidráulica para limão fatiado, destilado por corrente de vapor e sob pressão reduzida. O rendimento médio para 200 Kg de limões (1500 a 2000 frutos) é de 1 Kg de óleo.

A centrifugação e a destilação do resíduo são utilizadas para a produção de ácido cítrico ou para o citrato de cálcio.

5.2.4 Desterpenação

A fim de concentrar as substâncias responsáveis pelo aroma do óleo essencial de limão, assegurar sua maior estabilidade, quanto à oxidação, procede-se à desterpenação.

Normalmente, a desterpenação é realizada pela destilação fracionada a vácuo, extração seletiva por solventes ou, através da técnica de extração supercrítica com CO_2, que devido às baixas temperaturas utilizadas são obtidos óleos essenciais de alta qualidade, sem a presença de terpenos e sesquiterpenos (3 unidades de isopreno), porém é extremamente cara, apesar do alto rendimento de extração (98-100%), contendo cerca de 40 a 65% de citral.

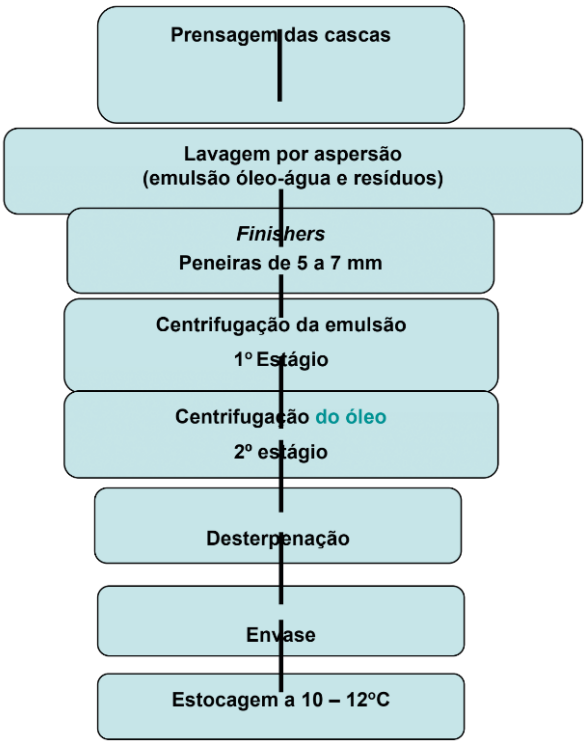


Figura 17. Fluxograma da produção de óleo essencial de limão.

5.2.5 Armazenamento e conservação

O óleo essencial deve ser estocado em locais frescos (10 - 12°C), em tambores de cobre sem umidade e, sua conservação pode ser de até um ano, se mantido sob vácuo.

O óleo essencial de limão possui ceras e outras substâncias não voláteis dissolvidas que podem formar sedimentos, especialmente na estocagem a frio.

Durante a estocagem, os teores de β-pineno e γ-terpineno podem diminuir enquanto o de p-cimeno pode aumentar; essas alterações podem afetar o *flavor* dos óleos. O citral, a substância chave, é pouco afetada.

REFERÊNCIAS

ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTVEIT, M. E. **Ethylene in plant biology**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. 414 p.

ARAÚJO, J.M.A. Óleos essenciais. **Química dos Alimentos:** teoria e prática**.** 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 1999. cap.4, p. 127–138.

BALDWIN, E. A. Citrus fruits. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. cap. 8, p. 255-271.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Padrões de Identidade e Qualidade para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. Portaria n. 544 de 16 de novembro de 1998. Diário Oficial da União, 17 de novembro de 1998, Seção 1, p. 90, Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Padrões de Identidade e Qualidade para Polpas de Frutas, Sucos Tropicais. Instrução normativa n. 12, de 10 de setembro de 1999. Diário Oficial da União, Brasília, DF, de 13 de setembro de 1999, Seção 1, p. 72.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Instrução Normativa n. 1 de 07/01/2000 publicada em 10/01/2000, Seção 1, pg. 54. Padrões de Identidade e Qualidade para Polpas de Frutas, Sucos Tropicais. Revoga a Instrução Normativa n. 12 de 10/09/1999. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 de setembro de 1999, Seção 1, p.72.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Padrões de Identidade e Qualidade para bebidas. Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001, Seção 1, p 4.22 Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 3510 de 16 de junho de 2000. Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto no 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de junho de 2000, Seção 1, p.1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 544, de 16 de novembro de 1998, para fixação dos padrões de identidade e qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. Diário Oficial da União de 17 de novembro de 1998, Seção 1, p.90, Brasília, DF.

BROWN, M. G.; KLIMER, R. L.; BEDIGIAN, K. Overview and trends in the fruit juice processing industry. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. **Fruit juice processing technology**. Florida: Agscience, 1993. cap.1, p. 1-22.

CARTER, B. A. Lemon and lime juices. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. **Fruit juice processing technology**. Florida: Agscience. 1993. cap. 7, p. 215-270.

CARVALHO, L. M. J.; SILVA, C. A. B.; GAVA, J. R.; ABADIO, F. D. B. Commercial sterilization of fruit juices by ultrafiltration/microfiltration membranes. **Alimentaria**, Madrid, v. 333, p.123-127, 2002.

CASAS, A.; MALLENT, D. El color de los frutos cítricos. I. Generalidades. II. Factores que influyen en el color. Influencia de la especie, de la variedad y de la temperatura. **Revista de Agroquímica y Tecnologia de Alimentos**, Valencia, v.28, n.2, p.185-202, 1988.

CHEN, C. S. Physiochemical principles for the concentration and freezing fruit juices. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. **Fruit juice processing technology**. Florida: Agscience, 1993. cap. 2, p. 23-55.

CSERHALMI, Z. S.; SASS-KISS, A.; MARKUS, M.; LECHNER, N. Study of pulsed electric field treated citrus juices**. Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Leuven, v.7, n. 1 - 2, p.49.-54, 2006.

COLL, L. et a. Viscometric control in the enzymatic extraction of citrus peel oils. **Food Control**, Amsterdã, v 6, n.3, p.143-146, 1995.

COLLET, L. S. F. C. A. et al. A kinetic study on pectinesterase inactivation during continuous pasteurization of orange juice. **Journal of Food Engineering**, Leuven, v. 69, n. 11, p. 125 – 129, 2005.

DURIGAN, M. F. B.; MATTIUZ, B. H.; DURIGAN, J. F. Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida Tahiti armazenada sob condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 369-372, 2005.

FERREIRA FILHO, N. C.; LEITE, I. C.; STUCHI, E. S. Desbaste da limeira-ácida Tahiti (*Citrus latifolia,* Tanaka) com “TPA” e efeitos na produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 312-316, 2002.

SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R. Oleocelose (Mancha de óleo dos citros). **Citrus em Foco**, Brasília, DF, n. 27, dez., p 1-2, 2004.

FIORAVANÇO, J. C.; MANICA, I.; PAIVA, M. C. Efeito da citocinina, cera e embalagem sobre algumas características bioquímicas do limão Tahiti armazenado em temperatura controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.15, n. 3, p. 33-42, 1993.

FRANCESCHI, E., GRINGS, M. B., FRIZZO, C. D., OLIVEIRA, V., DARIVA, C. Phase behavior of lemon and bergamot peel oils in supercritical CO_2. **Fluid Phase Equilibria,** Leuven, v. 226, p. 1– 8, 2004.

FREDSTED, L. B. Processing systems for fruit juice and related products. In: ASHURST, P. R. **Production and Packaging of non-carbonated fruit juices and fruit beverages**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. cap. 10, p. 274-280.

GIRONI, F.; MASCHIETTI, M. Supercritical carbon dioxide fractionation of lemon oil by means of a batch process with an external reflux. **Journal of Supercritical Fluids**, Amsterdã, v. 35, p. 227–234, 2005.

GRAÇA, J. et al. **A cultura da lima ácida Tahiti (limão Tahiti): perspectivas, tecnologia e viabilidade.** Niterói: PESAGRO-RIO, 1997. 40p. (Documentos, 38).

GUENTHER, E. Individual essential oils of the plant families *Rutaceae* and *Labiatae*. In: _____. **The essential oils**. New Jersey: Van Nostrand**,** 1949. p. 287 – 331.

HARMON, A. D. Solid-phase microextraction for the analysis of flavors. In.: HARMON, A. D. **Food aroma**: Techniques and analyzing. New York: Marsili & Dekker, 1996. p. 81-112.

HENDRIX, C. M.;REDD, J. B. Chemistry and technology of citrus juices and by-products. In: HENDRIX, C. M., REDD, J. B. **Production and packaging of non-carbonated fruit juices and fruit Juice beverages**. New York: D. Hicks, 1990. 32 p.

INGALLINERA, B.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G.; PALMERI, R.; TODAZO, A.. Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices. **Enzyme & Microbial Technology**, Atlanta, USA, v. 36, p. 258–263, 2005.

JIMENEZ-CUESTA, M.; CUQUERELLA CAYUELA, J.; MARTINEZ-JAVEGA, J. M. **Teoria y practica de la desverdizacion de los citricos.** Madrid: INIA, 1983. 22 p. (Hoja Técnica, 46).

JOMORI, M. L. L.; KLUGE, R. A.; JACOMINO, A. P.; TAVARES, S. Conservação refrigerada de lima ácida Tahiti: uso de 1-metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 406-409, 2003.

KADER, A. A.; ARPAIA, M. L. Postharvest handling system: subtropical fruits. In: KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. Oakland: University of California, 1992. p. 233-240.

KAYS, J. S. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 453 p.

LANCIOTTI, R. et al. Use of natural aroma compounds to improve shelflife and safety of minimally processed fruits. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v.15, n. 3/4, p. 201 – 208, 2004.

MARIN, F. R. et al. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. **Food Chemistry**, Chicago, USA, v. 78, n.3, p. 319 – 324, 2002.

MAZZUZ, C. F. **Calidad de frutos cítricos**: manual para sugestion desde la recoleccion hasta la expedicion. Barcelona: Ediciones de Horticultura, 1996. 317 p.

MENDONÇA, K. et al. Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento do limão “Siciliano”. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 179 - 183, 2003.

MIZOBUTSI, G. P.; BORGES, C. A. M.; SIQUEIRA, D.L. Conservação pós-colheita da lima ácida ‘Tahiti (*Citrus latifolia,* Tanaka), tratada com ácido giberélico e armazenada em três temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, p. 42 - 47, 2000. Número especial.

MOUFIDA, S.; MARZOUK, B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. **Phytochemistry**, Oxford, v. 62, p. 1283-1289, 2003.

PEDRÃO, M. R. et al.. Estabilidade físico-química e sensorial do suco de limão Tahiti natural e adoçado, congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 282-286, maio/ago., 1999.

RANGANNA, S.; GOVINDARAJAN, V.; RAMANA, K.V.R. Citrus fruits: Chemistry, technology and quality evaluation. **CRC Critical Reviews of Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 19, n. 1, p. 1, 1983.

REDD, J. B.; HENDRIX JUNIOR, C. M. Processing of natural citrus oil and flavors. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. **Fruit juice processing technology**. Florida: Editora Agscience, 1993. 713 p.

REETZ E. R. et al. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Santa Cruz, 2007. 136 p.

RIGON, L. et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2005**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2005. 136 p.

ROIG, M. G. et al. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. **Food Research International,** Oxford, v. 32, n. 9, p. 609 - 619, 1999.

ROTHSCHILD, G.; KARSENTY, A. Cloud loss during storage of pasteurized citrus juice and concentrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 39, p. 1037-1041, 1974.

ROWE, D., TANGEL, B. Aroma Chemicals for the Sweet Field. **Perfumer and Flavourist Magazine**, New York, v.24, n. 6, p. 36, 2003.

RUSCHEL, C, K. et al. Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre/RS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 94-97, jan./abr., 2001.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. Portaria Conjunta CVS-IAL nº 1, de 28 de novembro de 2003. Dispõe sobre o Programa Paulista de Análise Fiscal de Alimentos Biênio 2003-2004. São Paulo, SP, **Diário Oficial do Estado**, São Paulo, 29 nov. 2003, v. 113, n. 228. Seção 1, p. 36-49.

SÃO PAULO (Estado). Decreto nº 12.486, de 20 de outubro de 1978. Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas. Resolução nº 12 de 1978 Aprova NORMAS TÉCNICAS ESPECIAIS, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos e bebidas. Diário Oficial do Estado São Paulo, Poder Executivo, 21 de outubro de 1978, p.1.

SAWAMURAA, M. et al. Compositional changes in commercial lemon essential oil for aromatherapy. **International Journal of Aromatherapy**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 27 - 36, 2004.

SPÓSITO, M. B. et al. Armazenamento refrigerado de frutos de limeira-ácida 'Tahiti' tratados com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 345-348, 2000.

SPÓSITO, M.B. et al. Doenças fúngicas em citros. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, Brasil, n. 36, fev./mar., 2006. 6p. Edição especial.

TING, S. V.; ATTAWAY, J. A. Citrus fruits. In: AUTOR. A.C.**The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. v. 2, p. 107–169.

TOLKOWSKY, S. **Hesperides**: a history of the culture and use of citrus fruits. London: John Bales, 1936. 371 p.

VANDERCOOK, C. E.; MACKEY, B. E.; PRICE, R. L. New statistical approach to evaluation of lemon juice. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Davis, v. 21, p. 881-883, 1973.

VICENTE, A. M.; CENZANO, I.; VICENTE, J. M. Elaboração de sucos, geléias e bebidas refrigerantes. In: VICENTE, A. M.; CENZANO, I.; VICENTE, J. M. **Manual das indústrias de alimentos.** São Paulo: Livraria Varela. 1996. cap. 10, p. 315-324.

WEISS, E. A. **Essential oil crops**. Cambridge: University Press, 1997. 600 p.

SOBRE A ORGANIZADORA

CARLA CRISTINA BAUERMANN BRASIL- Possui graduação em Nutrição pela Universidade Franciscana (2006), Licenciatura pelo Programa Especial de Graduação de Formação de Professores para a Educação Profissional (2013), especialização em Qualidade de Alimentos pelo Centro Brasileiro de Estudos Sistêmicos (2008), especialização em Higiene e Segurança Alimentar pela Universidad de León (2011), especialização em Vigilância Sanitária e Qualidade de Alimentos (2020) pela Universidade Estácio de Sá, MBA executivo em Gestão de Restaurantes (2021), especialização em Segurança Alimentar (2021), Mestrado e Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) na linha de pesquisa ‘’Qualidade de Alimentos’’. Atua como docente do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Santa Maria e participa de projetos de pesquisa e extensão na área de ciência e tecnologia de alimentos, com ênfase em sistemas de garantia e controle de qualidade dos alimentos.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ácidos graxos insaturados 51, 125, 130

Acrocomia aculeata (jacq.) Lodd 49

Agaricus blazei 12, 13, 17

Agrotóxicos 205, 206, 207, 209, 210, 211, 212, 214

Água 8, 14, 21, 22, 23, 26, 27, 43, 59, 67, 80, 81, 84, 88, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 107, 112, 113, 116, 117, 133, 134, 135, 165, 168, 171, 176, 181, 188, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 212, 214, 219, 220, 221, 224, 226, 227, 230, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 239, 241

Alimentos funcionais 18, 19, 86

Alimentos ready-to-eat 125

Análise de Alimentos 108

Análise química, 55, 64

Análises físico-químicas 76, 103, 104, 107, 178

Artrópodes 164, 168, 169, 172

Avicultura 109, 110, 121, 122, 123

B

Babaçu 5, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 37, 38, 39

Bacillus cereus 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 182

Bactérias do ácido láctico 1, 2, 8

C

Caracterização anatômica 55

Chocolate intenso 18

Citral 88, 89, 90, 91, 101, 220, 240, 242

Citrus latifolia 216, 218, 244, 245

Coliformes 40, 42, 43, 44, 45, 46, 74, 80, 84, 86, 182

Composição centesimal 54, 55, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 103, 108

Consumo 2, 8, 13, 27, 41, 50, 51, 57, 64, 75, 85, 110, 111, 112, 115, 116, 119, 125, 131, 144, 167, 169, 171, 172, 177, 180, 181, 205, 207, 214, 224, 231, 234, 237, 243

Cor do vinho 1, 3, 7, 8

Coxa 109, 110, 114, 115, 117, 118, 119, 120

Cultivo submerso 11, 12, 13, 14, 15

Cumbaru 6, 74, 75, 76, 77, 78, 80, 83, 85

D

Destilação 89, 90, 91, 93, 190, 235, 241, 242

Dpph• 11, 12, 14, 16

E

Eleutherine bulbosa 6, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 68, 69, 71

Embutidos cárneos 103, 104, 108

Enologia 1, 3

Essência 89, 90, 99

F

Farinha de bagaço de malte 6, 74, 75, 76, 77, 78, 82, 83, 84, 85

Fermentação 5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 19, 20, 75

Fermentação malolática 5, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10

G

Gilts 7, 147, 148, 149

H

Híbridos comerciais 6, 109, 110, 111, 117, 118, 119, 120

Hyperestrogenism 147

I

Inovação 5, 29, 38, 39, 52, 70, 166

L

Lima ácida 216, 217, 218, 219, 220, 221, 223, 224, 244, 245

Literatura científica 48, 183

M

Manteiga de cacau 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27

Mesocarpo 5, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38

Monitoramento 45, 206

O

Organoaluminosilicate 147, 149, 150, 151

P

Peito 109, 110, 112, 115, 117, 118, 119, 120, 122

Ph 7, 153, 155

Potencial mercadológico 48

probióticos 18, 19, 20, 23, 25, 26, 27, 134

PROBIÓTICOS 23

Processamento 8, 5, 30, 40, 42, 45, 51, 76, 77, 79, 80, 122, 133, 145, 165, 166, 167, 179, 216, 222, 224, 225, 231, 232, 233, 234, 235

Prospecção 5, 20, 29, 30, 39, 59

R

Reproduction 147

Roedores 164, 167, 168, 169, 172, 176

S

Salmonela sp 40

Salsichas 103, 104, 106, 107, 108, 124, 133, 135, 136

Saudabilidade 50, 125, 133

Stability 7, 28, 139, 140, 142, 143, 144, 146, 153, 154, 160, 162, 163

Suco de limão 8, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 223, 224, 225, 227, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 239, 245

T

Taninos 1, 2, 3, 5, 7, 8, 55, 58, 63, 64, 65, 68, 69, 72

Temperature 47, 153, 154, 155, 156, 158, 159, 160

Toxin binders 7, 147, 149

Tricologia 164, 168

V

Validação de método 206

Vigilância sanitária 40, 42, 44, 46, 69, 100, 164, 165, 166, 169, 171, 172, 174, 175, 182, 184, 185, 243, 246, 247

Vulvovaginitis 147, 148

Y

Yeast cell walls 147, 149, 152

Z

Zearalenone 7, 147, 148, 150, 152

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Alimentos: toxicologia e microbiologia & química e bioquímica

Atena Editora
Ano 2022

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Alimentos: toxicologia e microbiologia & química e bioquímica

Atena Editora
Ano 2022